



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E DE ALIMENTOS
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**Avaliação de parâmetros cinéticos de uma cultura mista de
microrganismos destinados à eliminação autotrófica de nitrogênio
via oxidação de tiosulfato**

RAFAEL DOS SANTOS AMIM

FLORIANÓPOLIS, FEVEREIRO 2008
SC – BRASIL



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E DE ALIMENTOS
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**Avaliação de parâmetros cinéticos de uma cultura mista de
microrganismos destinados à eliminação autotrófica de nitrogênio
via oxidação de tiosulfato**

RAFAEL DOS SANTOS AMIM

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Santa Catarina, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química, área de Concentração: Desenvolvimento de Processos Químicos e Biotecnológicos.

ORIENTADOR: Prof. PhD. Hugo Moreira Soares
CO - ORIENTADOR: Prof. Dr. Willibaldo Schmidell Neto

FLORIANÓPOLIS, FEVEREIRO 2008
SC – BRASIL

“A grande recompensa a que devemos aspirar é a consciência do dever cumprido”.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conduzir nesta jornada, e iluminar meu caminho nos momento mais difíceis.

A minha família, Jorge, Conceição, Júnior e Raquel, que mesmo a distância me fortaleceram, incentivaram, transmitindo a energia necessária para superar os obstáculos e finalizar mais uma etapa da minha vida.

Ao professor Hugo, pela oportunidade de realizar o mestrado, pela amizade, paciência e orientação.

Ao professor Willibaldo, pelos conselhos e experiência transmitidos ao longo do trabalho.

A minha grande companheira de laboratório, Fabi Akemi, a quem terei eterno carinho, respeito e admiração, agradeço pela amizade, incentivo, pelos momentos de descontração e de discussões, pela convivência.

A minha segunda família, Paulo, Marisa, Xandi, Lipe e Ricardo, agradeço pela amizade, companheirismo, pela confiança demonstrada, hospitalidade e pelo conforto do 301.

Aos amigos Samir, Érica Hasegawa, Érica Mineira, Ieda, Karen, Angélica, pelas oportunidades de conhecer os costumes e paisagens de Santa de Catarina.

Aos amigos de laboratório, Dani, Hélio e Lari, pelas conversas, brincadeiras e amizade.

Ao Maurício, que muito contribuiu no instante final do trabalho.

Ao professor Agenor, Edevilson e Sandra pela atenção e cordialidade que sempre me atenderam.

Aos membros da banca examinadora, pela atenção e sugestões realizadas.

Ao CNPq e à FAPESC pelo financiamento desta pesquisa e à CAPES pela concessão da bolsa.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE TABELAS	viii
NOMENCLATURA.....	xi
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xiv
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	4
2.1 Objetivo geral	4
2.2 Objetivos específicos.....	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1 Ciclo do nitrogênio	5
3.1.1 Conversão de nitrogênio: bioquímica e metabolismo	7
3.1.1.1 Fixação	7
3.1.1.2 Amonificação	7
3.1.1.3 Assimilação	8
3.1.1.4 Nitrificação	9
3.1.1.5 Desnitrificação.....	13
3.1.2 Processos de tratamento de efluentes destinados à remoção de nitrogênio.....	16
3.1.2.1 Nitrificação e desnitrificação.....	16
3.1.2.2 Anammox	19
3.1.2.3 Sharon.....	19
3.1.2.4 Canon.....	21
3.1.2.5 Oland	22
3.2 Ciclo do enxofre	23
3.2.1 Conversão de enxofre: bioquímica e metabolismo	25
3.2.1.1 Assimilação de enxofre	25
3.2.1.2 Desulfurilação de enxofre.....	25
3.2.1.3 Redução de sulfato	25
3.2.1.4 Oxidação de sulfeto	27
3.2.2. Processos de tratamento de efluentes destinados à remoção de enxofre.....	28
3.2.2.1 Remoção de sulfato	28

3.2.2.2	Remoção de sulfeto	30
3.3	Integração dos ciclos biogeoquímicos do nitrogênio e do enxofre	31
3.4	Processos de tratamento destinados à remoção combinada de nitrogênio e enxofre	37
3.5	Medidas de potencial redox em sistemas de tratamento de efluentes	42
4	MATERIAIS E MÉTODOS	44
4.1	Sistema para enriquecimento e manutenção dos microrganismos em um reator contínuo	45
4.1.1	Inóculo	45
4.1.2	Reator contínuo	45
4.1.3	Meio de cultura	46
4.1.4	Sistema de operação	46
4.2	Ensaio cinético de desnitrificação autotrófica	48
4.2.1	Ensaio em batelada	48
4.2.2	Ensaio em reator CSTR	51
4.3	Métodos Analíticos	52
4.3.1	Determinação de nitrato	52
4.3.2	Determinação de nitrito	53
4.3.3	Determinação de amônio	54
4.3.4	Determinação do tiosulfato	55
4.3.5	Determinação de sulfato	58
4.3.6	Determinação de sulfeto	59
4.3.7	Determinação de enxofre total	60
4.3.8	Determinação de sólidos	60
4.3.9	Determinação do pH	61
4.3.10	Determinação de oxigênio	61
4.3.11	Determinação do potencial	61
4.4	Cálculos	61
4.4.1	Determinação das velocidades de consumo de substratos	61
4.4.2	Eficiência	63
4.4.3	Estimativa dos parâmetros cinéticos	63
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
5.1	Definição de metodologias analíticas	64

5.1.1 Nitrato	64
5.1.2 Nitrito	69
5.1.3 Tiosulfato	70
5.1.4 Enxofre total	71
5.1.5 Sulfato.....	73
5.2 Operação do reator contínuo.....	76
5.2.1 Ensaios preliminares de oxidação química (abiótica)	76
5.2.2 Reator contínuo	78
5.3 Monitoramento da biomassa desenvolvida no reator contínuo	85
5.4. Ensaios cinéticos com a biomassa	86
5.4.1 Variação da concentração celular	86
5.4.2 Ensaios cinéticos em diferentes relações molares S/N.....	89
5.4.3 Ensaios cinéticos em diferentes concentrações de enxofre (S)	91
5.4.4 Crescimento celular	99
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES.....	107
7. SUGESTÕES	108
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	109
9. ANEXOS.....	124

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1: Ciclo global do nitrogênio	6
Figura 3.2: Processo de oxidação aeróbia da amônia (Arp & Stein, 2003)	12
Figura 3.3: Vias metabólicas de redução de nitrato (Brock et al., 1997)	13
Figura 3.4: Sistema convencional de nitrificação e desnitrificação (Schmidell & Reginatto, 2007)	17
Figura 3.5: Ciclo global do enxofre	24
Figura 3.6: Metabolismo das bactérias redutoras de sulfato (Brock et al., 1997)	26
Figura 3.7: Reator de leito expandido (Janssen et al., 1999)	31
Figura 3.8: Integração dos ciclos do carbono, nitrogênio e enxofre (Santana, 2006)	32
Figura 3.9: Genes que participam do processo de oxidação de composto de enxofre (Beller et al., 2006a)	35
Figura 3.10: Processo de remoção de carbono, nitrogênio e enxofre (Wang et al., 2005)	37
Figura 3.11: Enxofre elementar extra-celular (Jansen et al., 1998)	39
Figura 3.12: Processo DEAMOX	41
Figura 3.13: Tolerância de bactérias à mudanças de pH e potencial redox (Atlas et al., 2002)	42
Figura 4.1: Experimentos cinéticos propostos neste trabalho	44
Figura 4.2: Lodo coletado na AMBEV, após drenagem	45
Figura 4.3: Matriz dos experimentos em batelada	50
Figura 4.4: Cinéticas realizadas no reator CSTR	52
Figura 5.1: Relação entre a concentração de nitrato e a concentração de sulfato de prata	66
Figura 5.2: Amostragem para análise de enxofre total	72
Figura 5.3: Curva de adição padrão de sulfato	74
Figura 5.4: Curva sem adição padrão de sulfato	74
Figura 5.5: Cinética química aeróbia (abiótica)	77
Figura 5.6: Cinética química anaeróbia (abiótica)	77
Figura 5.7: Monitoramento das concentrações dos íons durante a operação do reator contínuo	78
Figura 5.8: Relação mássica S/N de entrada do reator contínuo	80
Figura 5.9: Variação do pH no reator contínuo	80

Figura 5.10: Ensaio cinético de monitoramento da cultura de microrganismos na fase I – 100 mgS-S ₂ O ₃ ⁻² .L ⁻¹	85
Figura 5.11: Ensaio cinético de monitoramento da cultura de microrganismos na fase II – 300 mgS-S ₂ O ₃ ⁻² .L ⁻¹	85
Figura 5.12: Ensaio cinético de monitoramento da cultura de microrganismos na fase III – 500 mgS-S ₂ O ₃ ⁻² .L ⁻¹	85
Figura 5.13: Ensaio cinético na concentração celular de 1 gSSV.L ⁻¹ (relação molar S/N = 10/8).....	87
Figura 5.14: Ensaios cinéticos na concentração celular de 2 gSSV.L ⁻¹ (relação molar S/N = 10/8).....	87
Figura 5.15: Ensaio cinético na concentração celular de 3 gSSV.L ⁻¹ (relação molar S/N = 10/8).....	87
Figura 5.16: Ensaio cinético em diferentes concentrações celulares (relação molar S/N = 10/8).....	87
Figura 5.17: Ensaio cinético na relação molar S/N = 10/6	89
Figura 5.18: Ensaio cinético na relação molar S/N = 10/8	89
Figura 5.19: Ensaio cinético na relação molar S/N = 10/10	89
Figura 5.20: Ensaio cinético com 100 mgS-S ₂ O ₃ ⁻² .L ⁻¹ (Relação molar S/N = 10/8).....	92
Figura 5.21: Ensaio cinético com 300 mgS-S ₂ O ₃ ⁻² .L ⁻¹ (Relação molar S/N = 10/8).....	92
Figura 5.22: Ensaio cinético com 500 mgS-S ₂ O ₃ ⁻² .L ⁻¹ (Relação molar S/N = 10/8).....	92
Figura 5.23: Ensaio cinético com 700 mgS-S ₂ O ₃ ⁻² .L ⁻¹ (Relação molar S/N = 10/8).....	92
Figura 5.24: Ensaio cinético com 900 mgS-S ₂ O ₃ ⁻² .L ⁻¹ (Relação molar S/N = 10/8).....	92
Figura 5.25: Produção de S-SO ₄ ⁻² em diferentes concentrações de enxofre.....	94
Figura 5.26: Consumo de N-NO ₃ ⁻ em diferentes concentrações de nitrogênio	94
Figura 5.27: Aplicação do modelo de Monod para a relação μ_s e concentração de enxofre..	96
Figura 5.28: Aplicação do modelo de Monod para a relação μ_N e concentração de nitrato ...	96
Figura 5.29: Ensaio cinético de conversão substrato-célula (S= 500 mgS-S ₂ O ₃ ⁻² .L ⁻¹ ; N= 175 mgN-NO ₃ ⁻ .L ⁻¹ , X= 2 g SSV.L ⁻¹).....	99
Figura 5.30: Variação da concentração celular durante a cinética de crescimento celular ...	101
Figura 5.31: Variação da concentração celular durante a cinética de decaimento celular....	102
Figura 5.32: Cinética potencial redox 100 mg S-S ₂ O ₃ ⁻² .L ⁻¹ (relação S/N =10/8 e X ₀ =2 gSSV.L ⁻¹)	103

Figura 5.33: Cinética potencial redox 300 mg S-S ₂ O ₃ ⁻² .L ⁻¹ (relação S/N =10/8 e X ₀ =2 gSSV.L ⁻¹)	103
Figura 5.34: Cinética potencial redox 500 mg S-S ₂ O ₃ ⁻² .L ⁻¹ (relação S/N =10/8 e X ₀ =2 gSSV.L ⁻¹)	103
Figura 5.35: Variação do potencial com o tempo de ensaio cinético, na condição de 100 mg S-S ₂ O ₃ ⁻² .L ⁻¹	104
Figura 5.36: Variação do potencial com o tempo de ensaio cinético, na condição de 300 mg S-S ₂ O ₃ ⁻² .L ⁻¹	105
Figura 5.37: Variação do potencial com o tempo de ensaio cinético, na condição de 500 mg S-S ₂ O ₃ ⁻² .L ⁻¹	105
Figura 5.38: Variação do potencial redox com a variação da concentração de S-SO ₄ ⁻²	106
Figura 5.39: Variação do potencial redox com a variação da concentração de N-NO ₃ ⁻	106

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1: Relação C/N para diferentes fontes de carbono e de nitrogênio	15
Tabela 3.2: Estados de oxidação do enxofre em vários compostos	24
Tabela 3.3: Bactérias que realizam a oxidação de enxofre	28
Tabela 3.4: Comparação das características do microrganismo isolado por Kodama & Watanabe, (2003) e <i>Thiobacillus denitrificans</i>	33
Tabela 4.1: Solução de nutrientes do meio estoque	46
Tabela 4.2: Condições de operação do reator.....	47
Tabela 4.3: Composição do meio sintético em cada fase de operação.....	48
Tabela 4.4: Relação teórica S_0/X_0	50
Tabela 4.5: Condições das cinéticas das relações molares S/N.....	51
Tabela 5.1: Resultado da análise da interferência do tiosulfato na quantificação de nitrato .	64
Tabela 5.2: Resultado do teste de quantificação de nitrato, na presença de tiosulfato, com adição de ácido e hidróxido	65
Tabela 5.3: Resultado do teste de quantificação de nitrato, na presença de tiosulfato, com adição de sulfato de prata em excesso	65
Tabela 5.4: Efeito da concentração de sulfato de prata na quantificação de nitrato.....	66
Tabela 5.5: Resultado do teste de quantificação de nitrato, na presença de tiosulfato, com adição de sulfato de prata	67
Tabela 5.6: Resultado do teste de quantificação de nitrato, na presença de sulfeto, com adição de sulfato de prata.....	67
Tabela 5.7: Resultado da análise da interferência de nitrito na quantificação de nitrato	68
Tabela 5.8: Resultado da quantificação de nitrato, com adição de reagentes, na presença de tiosulfato e de nitrito	68
Tabela 5.9: Resultado da quantificação de nitrato, com adição de reagentes, na presença de sulfeto e de nitrito	68
Tabela 5.10: Resultado da quantificação de nitrito, com adição de reagentes, na presença de tiosulfato	69
Tabela 5.11: Resultado da quantificação de nitrito, com adição de sais de bário, na presença de tiosulfato.....	70
Tabela 5.12: Resultado da quantificação de nitrito, com adição de reagentes, na presença de sulfeto	70

Tabela 5.13: Quantificação de tiosulfato, em várias concentrações, através da titulação	71
Tabela 5.14: Resultado do teste de oxidação de enxofre total	73
Tabela 5.15: Volume adicionado da solução padrão para preparo da curva de adição padrão	73
Tabela 5.16: Comparação da concentração de $S-SO_4^{-2}$ determinadas pelas duas curvas distintas	75
Tabela 5.17: Resumo dos testes com metodologias analíticas	76
Tabela 5.18: Eficiência do processo em cada fase de operação do reator contínuo	80
Tabela 5.19: Variação da concentração celular durante a operação do reator contínuo	81
Tabela 5.20: Velocidades específicas de consumo de nitrato em cada fase de operação do reator contínuo	82
Tabela 5.21: Velocidades de formação de sulfato em cada fase de operação do reator contínuo	83
Tabela 5.22: Relação $Y_{N/S}$ em cada fase de operação do reator contínuo	84
Tabela 5.23: Monitoramento da biomassa em cada condição de operação do reator contínuo	86
Tabela 5.24: Condições dos ensaios das cinéticas em diferentes concentrações celulares	88
Tabela 5.25: Velocidades específicas de consumo de nitrato e produção de sulfato em cada relação S_0/X_0	88
Tabela 5.26: Condições das cinéticas das relações molares S/N	89
Tabela 5.27: Velocidade específica de consumo de nitrato e produção de sulfato em cada relação S/N	90
Tabela 5.28: Fator de conversão $Y_{N/S}$ em diferentes relações S/N	91
Tabela 5.29: Condições das cinéticas em diferentes concentrações de enxofre	91
Tabela 5.30: Eficiência de remoção de nitrogênio e conversão de enxofre em cada concentração de substrato	93
Tabela 5.31: Velocidades específicas de consumo de nitrato e produção de sulfato em distintas concentrações de enxofre	95
Tabela 5.32: Estimativa dos parâmetros cinéticos	98
Tabela 5.33: Comparação de parâmetro cinético obtidos por Zeng & Zhang (2005)	99
Tabela 5.34: Velocidades específicas obtidas no ensaio de crescimento celular	100
Tabela 5.35: Determinação do fator de conversão durante o ensaio cinético	101

Tabela 5.36: Velocidades específicas de consumo de nitrato e produção de tiosulfato	104
nos ensaios cinéticos de medidas de potencial redox	104
Tabela 5.37: Eficiência de remoção de nitrogênio e conversão de enxofre nos ensaios cinéticos de medidas de potencial redox	104

NOMENCLATURA

AMBEV- Companhias de Bebidas das Américas

AMO - Amônia Monoxigenase

ANA - Agência Nacional de Águas

ANAMMOX - *Anaerobic Ammonium Oxidation*

ATTC - *American Type Culture Collection*

BOA - Bactéria Oxidadora de Amônia

BON - bactéria oxidadora de nitrito

BRS - Bactérias redutoras de sulfato

C/N - Relação entre carbono e nitrogênio

CANON - *Completely Autotrophic Nitrogen removal Over Nitrite*

CASAN - Companhia Catarinense de Águas e Abastecimento

CONAMA - Conselho Nacional de Meio Ambiente

CSTR - *Continuous Stirred-Tank Reactor*

D - vazão específica

DEAMOX - *Denitrifying Ammonium Oxidation*

HAO - Hidroxilamina Oxidoreductase

NH₂OH - hidroxilamina

NIR - Nitrito Redutase

N-N₂ - Concentração de nitrogênio na forma de nitrogênio molecular

N-NH₄⁺ - Concentração de nitrogênio na forma de amônio

N-NO₃⁻ - Concentração de nitrogênio na forma de nitrato

NOR - Nitrito Óxido Redutase

O₂ - Concentração de oxigênio

OLAND - *Oxygen Limited Autotrophic Nitrification Denitrification*

ORP- *Oxidation–Reduction Potential*

S/N - Relação entre o enxofre e nitrogênio

S₀ - Enxofre elementar

S₀/X₀ - relação entre o substrato e a concentração celular

SBR - *Sequencing Batch Reactor*

SHARON - *Single Reactor High Activity Ammonia Removal Over Nitrite*

S-S⁻² - Concentração de enxofre na forma de sulfeto

S-S₂O₃⁻² - Concentração de enxofre na forma de tiosulfato

S-SO₄⁻² - Concentração de enxofre na forma de sulfato

SSV - Sólidos suspenso voláteis

t- Tempo de experimento

TRH – Tempo de retenção hidráulico

UASB - Upflow Anaerobic Sludge Blanket

V_r - volume retirado por dia de efluente

V_u - volume útil do reator

X - concentração celular

Y_{N/S} - Fator de conversão de sulfato produzido em nitrogênio removido

Y_{X/S} - Fator de conversão substrato células

μ - Velocidade específica de crescimento celular

μ_{máx} - Velocidade específica máxima de crescimento celular

μ_N - Velocidade específica de consumo de nitrato

μ_S - Velocidade específica de formação de sulfato

RESUMO

O principal impacto ambiental inerente da atividade industrial é a poluição dos recursos hídricos, devido ao lançamento de efluentes líquidos nestes. Estes efluentes contêm distintos contaminantes, destacando-se o enxofre e o nitrogênio. Para minimizar o impacto ambiental é necessário desenvolver e aprimorar sistemas de tratamento de efluentes destinados à remoção destas substâncias. Assim, utilizando-se de uma cultura mista de microrganismos, desenvolveu-se, em um reator contínuo, o processo de desnitrificação autotrófica via oxidação do tiosulfato. Estabelecido o processo e adaptada a cultura à condição de $500 \text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$ e $175 \text{ mgN-NO}_3^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$, iniciou-se os ensaios cinéticos em batelada para definir a concentração celular ideal para os experimentos; determinar a melhor relação S/N e estimar alguns parâmetros cinéticos da referida cultura. Operou-se o reator contínuo durante 211 dias, evidenciando uma satisfatória remoção de nitrogênio (92%) e total conversão de tiosulfato a sulfato. Os ensaios cinéticos foram conduzidos com uma concentração celular de $2\text{gSSV} \cdot \text{L}^{-1}$, identificando a relação molar S/N estequiométrica (10/8) como propícia ao desenvolvimento dos testes para a determinação dos parâmetros cinéticos. Através das cinéticas da relação S_0/X_0 , verificou-se que o modelo de Monod, foi o mais adequado, estimando-se assim os parâmetros cinéticos $K_S = 100,53 \text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$ e $K_N = 29,96 \text{ mgN-NO}_3^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$. Além disso, foram obtidas medidas de potencial redox em distintas concentrações de enxofre e nitrogênio, com a finalidade de avaliar a variação do potencial no processo.

ABSTRACT

The main environmental impact is the pollution of the waters, caused by wastewater without treatment. These residues contain several pollutants such as nitrogen and sulfur. Consequently, it is necessary to promote the residues treatment with the objective to decrease the environmental degradation. Therefore, a continuous reactor (10L) with a mixed culture of microorganisms was developed to the autotrophic desnitrification process through tiosulfate oxidation. The culture was adapted in the concentration of the $500 \text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$ and $175 \text{ mgN-NO}_3^{-} \cdot \text{L}^{-1}$. Then, the kinetic experiments were realized to define the ideal cellular concentration for the experiments, the best S/N relationships and to estimate kinetic parameters. The continuous reactor operated during 211 days, obtaining, 92% of nitrogen was removed and tiosulfate was converted to sulfate. The kinetic experiments was realized with a cellular concentration of the $2\text{gSSV} \cdot \text{L}^{-1}$, identifying the relationship S/N of 10/8 as favorable to the development of the tests for the determination of the kinetic parameters. Through S0/X0 relationship, it was verified that Monod model was the best model to estimate the kinetic constants. It was obtained $K_S = 100,53 \text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$; $K_N = 29,96 \text{ mgN-NO}_3^{-} \cdot \text{L}^{-1}$. Besides, it was realized redox potential measurements in different concentrations of sulfur and nitrogen to determine potential variation in the process.

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento industrial, iniciado durante a revolução industrial do século XVIII, propiciou o crescimento e a evolução do setor produtivo. Distintas fábricas surgiram, estabelecendo processos em vários setores da economia, aprimorando o sistema de produção. Porém, o âmbito ambiental não foi inserido neste progresso, e o que se observa é o consumo inadequado dos recursos ambientais, gerando poluição atmosférica e dos recursos hídricos.

Esta situação se prolongou por longos anos até que se verificou a necessidade de se adequar o capitalismo ao consumo dos recursos naturais. A partir do século XX, surgiram convenções e tratados destinados à discussão do uso racional do meio ambiente e das alterações ambientais geradas pelo homem.

No Brasil, a Política Ambiental baseia-se na definição de legislação específica para cada setor produtivo, na criação de órgãos ambientais, bem como na aplicação de técnicas de controle para conservação do meio ambiente. Assim, surgem legislações específicas como a Lei 9433/97 que define a Política Nacional de Recursos Hídricos, e outras como a criação de unidades de conservação e lei de crimes ambientais. Órgãos como o CONAMA (Conselho Nacional de Meio Ambiente), ANA (Agência Nacional de Águas), visam regulamentar o despejo industrial nos recursos hídricos, além de estabelecer parâmetros de lançamento.

Atualmente, o principal impacto poluidor é a degradação dos recursos hídricos, ocasionada pelo lançamento de efluentes industriais e esgotos domésticos sem tratamento. Estes efluentes contêm diversos poluentes como metais pesados, matéria orgânica, e substâncias como nitrogênio e enxofre.

Os impactos ocasionados pelo nitrogênio no meio ambiente são o fenômeno da eutrofização, toxicidade aos peixes (amônia), doença em recém nascidos (nitrato), além do fato da amônia gerar demanda química de oxigênio (Bernet *et al.*, 2005; Liu & Koenig, 2002; Kimura *et al.*, 2002). Várias indústrias promovem a geração de efluentes contendo elevadas concentrações de nitrogênio, podendo-se citar farmacêutica ($340 \text{ mgN-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$), abatedouros ($200 \text{ mgN-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$), curtume ($200\text{-}500 \text{ mgN-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$), usina de álcool e açúcar ($450\text{-}1610 \text{ mgN} \cdot \text{L}^{-1}$), suinocultura ($1000 \text{ mgN-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$) entre outras (Ramos *et al.*, 2007; Mittal, 2006; Carrera, 2003).

O impacto ambiental gerado pelo enxofre consiste principalmente pela chuva ácida, odor ofensivo, corrosão de aço e concreto, demanda química de oxigênio, toxicidade aos

microrganismos e ao homem (Santana *et al.*, 2007; Gadekar *et al.*, 2006; Vaiopoulou *et al.*, 2005; Takashima *et al.*, 2000). Entre as empresas que possuem efluentes com essas características destacam-se a têxtil ($1800\text{--}2000\text{ mg SO}_4^{2-}\cdot\text{L}^{-1}$), curtume ($1800\text{ mgSO}_4^{2-}\cdot\text{L}^{-1}$), fermento ($5000\text{ mg SO}_4^{2-}\cdot\text{L}^{-1}$); mineração (drenagem ácidas de minas, $350\text{--}550\text{ mg SO}_4^{2-}\cdot\text{L}^{-1}$, ou até $1500\text{--}7200\text{ mg SO}_4^{2-}\cdot\text{L}^{-1}$), entre outras (Menert *et al.*, 2004; da Silva, 2005; Roger *et al.*, 2007; Boshoff *et al.*, 2004). De acordo com a resolução CONAMA 357/2005, para lançamento de efluentes nos corpos d'água devem ser mantidos os limites de $20\text{ mgN-NH}_4^+\cdot\text{L}^{-1}$ e $1,0\text{ mgS}^{2-}\cdot\text{L}^{-1}$, além de preservar as características e padrões de cada classe de água (por exemplo águas doces, classe 1, $10\text{ mgN-NO}_3^-\cdot\text{L}^{-1}$ e $250\text{ mgSO}_4^{2-}\cdot\text{L}^{-1}$).

Diante desta situação, é necessário promover o tratamento de efluentes evitando-se a degradação do meio ambiente. Os processos de tratamento para remoção de nitrogênio estão amplamente difundidos na literatura, destacando-se o de nitrificação/desnitrificação, além dos novos processos denominados de SHARON, CANON, ANAMMOX, OLAND. Os destinados à remoção de enxofre consistem principalmente na redução de sulfato e oxidação de sulfeto, ou até mesmo no “stripping” do sulfeto. Uma das dificuldades destes processos é a de atender aos parâmetros da legislação, por isso a importância de desenvolvimento de novas tecnologias.

No entanto, poucas pesquisas têm se destinado à remoção combinada de nitrogênio e enxofre. Um processo que consiste em promover a redução de uma fonte de nitrogênio a gás nitrogênio, oxidando uma fonte de enxofre, geralmente sulfeto ou tiosulfato, a enxofre elementar. Este tipo de processo possui a vantagem de evitar a emissão de sulfeto durante a remoção de enxofre, devido à formação de enxofre elementar, que é removido juntamente com a biomassa.

Acredita-se que este processo se estabeleça devido ao metabolismo do *Thiobacillus denitrificans*, uma bactéria facultativa, quimioautotrófica obrigatória, capaz de promover a desnitrificação via integração dos ciclos bioquímicos destes elementos. Grupos de pesquisa de diversos países, como Holanda, China e Brasil realizam pesquisas para identificar os aspectos fisiológicos dos microrganismos e seu comportamento em reatores destinados ao tratamento de efluentes.

Assim, neste trabalho realizaram-se ensaios cinéticos com uma cultura mista de microrganismos, coletados de sistemas de tratamento anaeróbio e aeróbio, visando estabelecer

o processo de remoção de nitrogênio e oxidação de enxofre. A definição de parâmetros cinéticos permite o entendimento do metabolismo e a compreensão do fenômeno.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho é adaptar uma cultura mista de microrganismos ao processo de remoção de nitrogênio e conversão de enxofre, avaliando a capacidade desnitrificante dos microrganismos, a eficiência do processo combinado, e determinando alguns parâmetros cinéticos da cultura. Destaca-se ainda, a definição de metodologias e procedimentos analíticos adequados para determinar a presença de enxofre nas amostras e delimitar o balanço de massa do mesmo.

2.2 Objetivos específicos

- Estabelecer, em um reator contínuo, o processo de remoção combinado de nitrogênio e enxofre, através da desnitrificação autotrófica e conversão de tiosulfato a sulfato;
- Avaliar o comportamento da cultura mista de microrganismos enriquecida, através de reatores em batelada, variando a relação S/N e mantendo a concentração de enxofre constante, a fim de estabelecer as condições ótimas para os microrganismos (melhor relação S/N);
- Determinar os parâmetros cinéticos da cultura mista de microrganismos através de testes cinéticos em batelada em distintas concentrações de substratos na forma de enxofre, mantendo-se constante a melhor relação S/N e a concentração celular;
- Acompanhar a variação do potencial redox no processo de remoção combinada de nitrogênio e enxofre, visando relacionar esta grandeza com os demais parâmetros de controle de processo.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Ciclo do nitrogênio

O nitrogênio se encontra na natureza em muitos estados de oxidação, variando de -3 (NH_4^+ , amoníaco) até +5 (NO_3^- , nitrato). Este elemento é componente de aminoácidos, ácidos nucleicos, polímeros, sendo que o nitrogênio gasoso N_2 constitui 79% dos gases da atmosfera.

Os sais inorgânicos de nitrogênio, amônio, nitrato e nitrito são muito solúveis em água e, conseqüentemente, os oceanos, rios, lagos constituem fontes de nitrogênio. Outro reservatório importante de nitrogênio é a matéria orgânica. Em países de clima temperado, a matéria orgânica estabilizada ou húmus, é outra fonte de nitrogênio, ficando disponível por vários anos, devido à mineralização lenta. Já em regiões de clima tropical, a temperatura e a umidade favorecem a rápida mineralização e limita o acúmulo de húmus (Atlas *et al.*, 2002).

Atlas *et al.* (2002) identificaram que plantas, animais, e a maioria dos microrganismos requerem formas combinadas de nitrogênio para incorporação intracelular, no entanto a fixação de nitrogênio é restrita a uma pequena quantidade de bactérias e associações simbióticas. Enquanto as plantas suprem a fonte de carbono orgânico para determinados ecossistemas, estas dependem de bactérias fixadoras de nitrogênio ou da intervenção humana – através do uso de fertilizantes - para suprir a fonte de nitrogênio.

As transformações ocorridas entre as diversas formas de nitrogênio são decorrentes da ação de microrganismos e da atividade industrial. O nitrogênio, ao ser introduzido na atividade industrial, é utilizado em diversos processos, como a produção de fertilizantes e produtos químicos. Da atividade industrial é decorrente a geração de efluentes contendo distintas formas de nitrogênio, que através dos sistemas de tratamento de efluentes são convertidos a nitrogênio gasoso. Destaca-se ainda a contribuição animal que, através da ingestão de nitrogênio e excreção do mesmo, funcionam como fontes de sais de amônio, que serão convertidos a nitrogênio molecular e utilizados no crescimento celular. Na Figura 3.1 está sintetizado as transformações do nitrogênio.

microrganismos como *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Pseudomonas*, que realizam as etapas deste ciclo. A seguir será realizado um detalhamento de cada etapa.

3.1.1 Conversão de nitrogênio: bioquímica e metabolismo

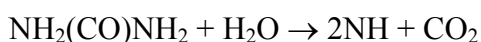
3.1.1.1 Fixação

Barnes & Bliss (1983) descrevem que a etapa de fixação é realizada por microrganismos presentes naturalmente no ambiente, sendo responsáveis pela maior inserção de nitrogênio fixado. Outra fonte de nitrogênio se deve a fontes externas, como produtos químicos ou fertilizantes. Esta fixação já está bem estabelecida nos solos e também é significativa em lagos, sendo realizado por cianobactérias e por bactérias presentes nas águas e em sedimentos.

De acordo com Atlas *et al.* (2002), a fixação biológica de nitrogênio molecular é realizada por vários gêneros de bactérias, algumas podem ser associações com rizosfera, e outros gêneros de bactérias realizam associação com plantas. Esta fixação de nitrogênio ocorre devido à baixa concentração de amônia. No solo, a fixação simbiótica de nitrogênio realizada por microrganismos do gênero *Rhizobium* (simbióticas de leguminosas) contribui mais significativamente do que a fixação por bactérias nativas.

3.1.1.2 Amonificação

Atlas *et al.* (2002) define a amonificação como o processo em que algumas plantas, animais e microrganismos são capazes de converter nitrogênio orgânico em amônia. Na matéria orgânica, ocorre predominantemente a forma reduzida amino, e a mineralização da matéria orgânica é essencial para a manutenção do ecossistema. A liberação de amônia, proveniente de composto orgânico como uréia, pode ser visualizada na reação demonstrada pela Equação 3.1:



3.1

Nitrogênio orgânico e amoniacal são as principais formas presentes em águas residuárias domésticas e são freqüentemente medidos como nitrogênio Kjeldahl total (NTK). Barnes & Bliss (1983) descrevem o equilíbrio entre o íon amônio e a amônia como demonstrado na reação a seguir (Equação 3.2).



Anthonisen *et al.* (1976) descrevem o equilíbrio do íon amônio e a amônia livre através da Equação 3.3. Baseado na Equação 3.3 é possível determinar a concentração amônia livre para dado valor de pH e temperatura.

$$[\text{NH}_3] = \frac{([\text{NH}_3] + [\text{NH}_4]) * 10^{\text{pH}}}{K_a + 10^{\text{pH}}} \quad 3.3$$

Onde: $[\text{NH}_3]$ = concentração de amônia ($\text{mgN-NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$)

$[\text{NH}_4]$ = concentração de amônio ($\text{mgN-NH}_4 \cdot \text{L}^{-1}$)

$([\text{NH}_3] + [\text{NH}_4])$ = amônia total como N ($\text{mgN} \cdot \text{L}^{-1}$)

$$K_a = e^{\left(\frac{6344}{273+t}\right)}$$

t = temperatura (°Celsius)

Em sistemas com pH próximo da neutralidade ou ácido, a amônia está presente na forma amônio. Devido a esse equilíbrio, em ambientes alcalinos, a amônia produzida é liberada para a atmosfera, onde fica inacessível para sistemas biológicos (Atlas *et al.*, 2002).

3.1.1.3 Assimilação

Esta etapa consiste na assimilação de nitrogênio durante o crescimento dos microrganismos seja heterotrófico ou autotrófico. Os requisitos de nitrogênio dependem da biomassa produzida por unidade de substrato utilizado. Microrganismos heterotróficos obtêm relativamente altas quantias de energia proveniente da degradação da matéria orgânica, resultando em alta produção de biomassa e assimilação de nitrogênio. No entanto, microrganismos autotróficos requerem elevada energia para converter CO_2 a formas orgânicas

mais complexas durante a síntese celular, resultando em baixa produção de biomassa por unidade de substrato utilizado e, conseqüentemente, baixos requerimentos de nitrogênio. Este processo é responsável por uma pequena remoção de nitrogênio durante o tratamento biológico de efluentes (Barnes & Bliss, 1983).

Em processos de remoção de nitrato, desnitrificação, ocorre conversão deste a amônia e posterior assimilação da amônia, exercendo a função de fonte de nitrogênio para o crescimento celular (Brock *et al.*, 1997).

3.1.1.4 Nitrificação

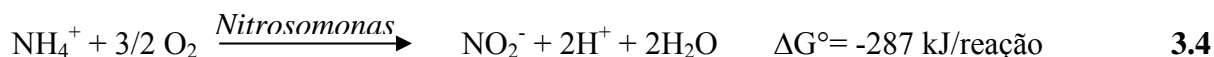
A amônia pode ser convertida em condições aeróbias a nitrito (nitritação) e este a nitrato por um processo de oxidação chamado de nitrificação.

Os gêneros *Nitrosomonas*, *Nitrosospira*, *Nitrosococcus*, *Nitrosolobus* e *Nitrosovibrio* são responsáveis pela oxidação da amônia a nitrito. E os gêneros *Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Nitrospina* e *Nitrococcus* são aptos a realizarem a oxidação de nitrito a nitrato (Koren *et al.*, 2000). Os microrganismos envolvidos neste processo são autótrofos quimiossintetizantes, para os quais o gás carbônico é a principal fonte de carbono, e a energia é obtida através da oxidação de um substrato inorgânico, como a amônia, a formas mineralizadas.

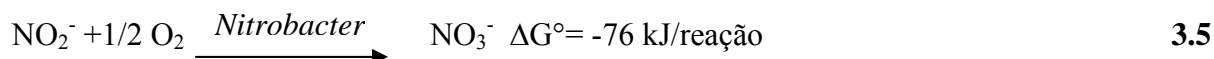
A primeira etapa da nitrificação, a formação de nitrito é atribuída geralmente à *Nitrosomonas europaea*, bactéria oxidadora de amônia, BOA; e a segunda etapa, formação de nitrato à *Nitrobacter agilis*, bactéria oxidadora de nitrito, BON. Distintos estudos mostram que *Nitrosomonas europaea* pode ser considerada quimiotrófica facultativa, sendo capaz de utilizar frutose, piruvato, acetato como fontes de carbono (Hommes *et al.*, 2003; Krummel *et al.*, 1982; Smith *et al.*, 1977). O gênero *Nitrobacter* é reconhecido por ter sua dependência em relação ao substrato nitrito, desde os primeiros estudos com a cultura pura realizados por Winogradsky, 1891 (Delwiche *et al.*, 1965). Também são caracterizados por serem quimioautotróficos obrigatórios e aeróbios estritos (Brock *et al.*, 1997).

Henze *et al.* (1997) descrevem o processo de nitrificação através das seguintes reações:

Geração de nitrito:



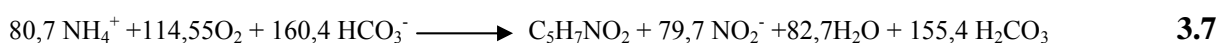
Geração do nitrato:



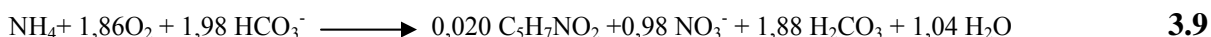
Reação global



A energia liberada da oxidação deste processo é utilizada na assimilação de CO_2 e, conseqüentemente, na síntese de material celular (Barnes & Bliss, 1983). Em termos de crescimento celular, Henze *et al.* (1997) propõem as seguintes equações estequiométricas para as duas etapas de nitrificação:



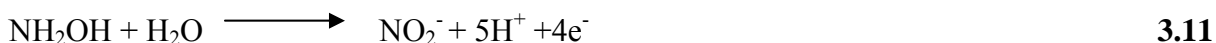
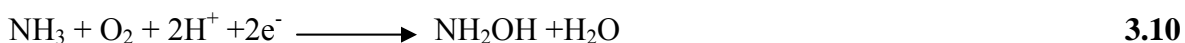
A equação final seria:



A análise destas equações indica um baixo fator de conversão substrato nitrogenado em células e, conseqüentemente, um crescimento lento destes microrganismos. Em processos de tratamento de efluentes sugere-se, como uma possibilidade, a utilização de reciclo de células para incrementar a velocidade das reações (Schmidell & Reginatto, 2007; Tape *et al.*, 1996). Através da Equação 3.9, é possível determinar o consumo de oxigênio necessário para a completa oxidação do amônio a nitrato, sendo de $4,57 \text{ gO}_2 \cdot (\text{gN-NH}_4^+)^{-1}$. E, pela estequiometria definida na Equação 3.7, pode-se calcular o consumo de oxigênio para oxidar o amônio até nitrito, obtendo-se $3,24 \text{ gO}_2 \cdot (\text{gN-NH}_4^+)^{-1}$. Comparando-se os valores obtidos, há

uma economia de 25% de O₂, evidenciando uma vantagem em oxidar o amônio até nitrito em processos de tratamento de efluentes, conforme será discutido mais adiante.

Estudos recentes relatam a versatilidade das BOAs de oxidar amônia em condições aeróbias e em condições anaeróbias (Bock *et al.*, 1995, Schmidt *et al.*, 2001). Em condições aeróbias, ocorre a oxidação da amônia através da utilização de oxigênio, tendo como intermediário a formação de hidroxilamina, Equação 3.10, e como produto o nitrito, Equação 3.11 (Chapman *et al.*, 2006; Schmidt *et al.*, 2004). Chapman *et al.* (2006) e Bothe *et al.* (2000) descrevem que, neste processo de oxidação autotrófica de amônia, duas enzimas são essenciais para a conservação da energia do processo, amônia monoxigenase (AMO) e hidroxilamina oxidoreductase (HAO). A amônia é oxidada pela enzima amônia monoxigenase, ocorrendo a redução de um átomo de oxigênio, que será inserido no substrato (amônia) formando o composto hidroxilamina (NH₂OH). O outro átomo de oxigênio será reduzido formando H₂O. A hidroxilamina será oxidada pela hidroxilamina oxidoreductase, liberando quatro elétrons. Destes, dois são utilizados para manutenção da oxidação da amônia e dois tornam-se disponíveis para assimilação de nutrientes orgânicos. Além destas enzimas, observa-se a atividade de nitrito redutase (NIR) e nitrito oxido redutase (NOR), (Arp & Stein, 2003; Bothe *et al.*, 2000).



Durante a oxidação da amônia, ocorre a formação de óxidos de nitrogênio, NO e N₂O, que possuem efeito regulador no metabolismo de bactérias nitrificantes (Schmidt *et al.*, 2002; Arp & Stein, 2003). Alguns destes óxidos possuem efeitos tóxicos para alguns microrganismos (Henry *et al.*, 1991). A Figura 3.2 sintetiza a oxidação aeróbia da amônia.

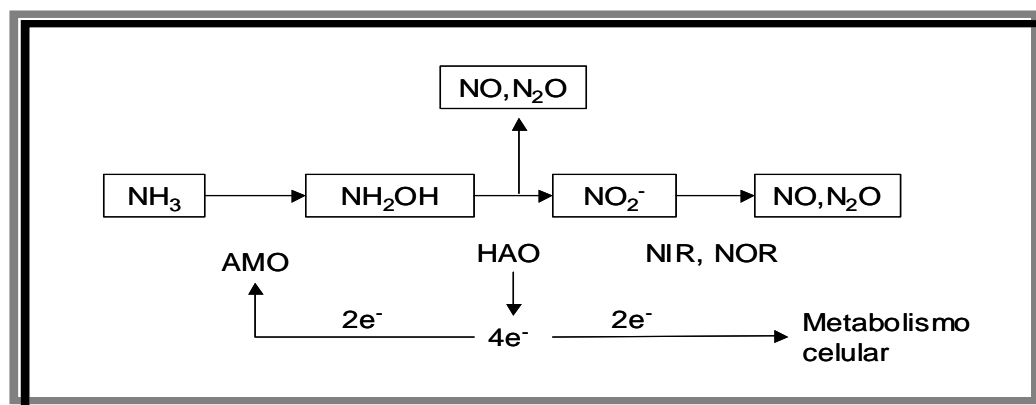
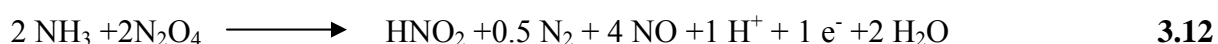


Figura 3.2: Processo de oxidação aeróbica da amônia (Arp & Stein, 2003)

A oxidação anaeróbica de amônia consiste na substituição do oxigênio por óxidos de nitrogênio, como NO_2 , NO , e o N_2O_4 (Equação 3.12), este sendo a forma dímera do NO_2 (Kampschreur *et al.*, 2005; Jetten, *et al.*, 1999; Schmidt *et al.*, 2002). Porém, ambos os processos possuem, como reação global, a Equação 3.9, caracterizada pelo consumo de oxigênio e liberação de prótons H^+ , consumindo alcalinidade.



Entre os principais fatores que afetam a nitrificação, destacam-se a temperatura, pH, oxigênio dissolvido e a presença de substâncias tóxicas ou inibidoras. A temperatura, associada ao tempo de retenção celular, é um fator de seletividade. A 35°C a máxima velocidade de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$) de bactérias nitrito-oxidantes é aproximadamente a metade do que a das amônio-oxidantes, 0,5 e 1 dia^{-1} , respectivamente. O pH considerado ideal para a nitrificação é 7,2 a 8,0 (Jetten *et al.*, 2001).

A concentração de oxigênio é um fator limitante e regulador do processo do processo de nitrificação. Em tratamento de efluentes industriais, isto é facilmente perceptível e essencial quando se promove a remoção de nitrogênio via acúmulo de nitrito (Ruiz *et al.*, 2006; Bougard *et al.*, 2006; Chuang *et al.*, 2007).

Distintas substâncias são consideradas inibidoras e tóxicas para os microrganismos que realizam o processo de nitrificação, destacando-se disulfeto de carbono, tiocianato de potássio, sulfeto de sódio, propano, clorometano, hidrocarbonetos e halogênios (Hyman *et al.*, 1990; Hooper & Terry, 1973; Keener & Arp, 1993). Anthonisen *et al.* (1976) descrevem que amônia livre e ácido nitroso também são inibidores do processo de nitrificação, sendo

considerado inibidor na concentração entre 10 e 150 $\text{mgNH}_3\cdot\text{L}^{-1}$ para *Nitrosomonas* e entre 0,1 e 1,0 $\text{mgNH}_3\cdot\text{L}^{-1}$ para *Nitrobacter*. Já para o ácido nitroso, a inibição ocorre entre as concentrações de 0,22 e 2,8 $\text{mg HNO}_2\cdot\text{L}^{-1}$.

3.1.1.5 Desnitrificação

O nitrato em condições anaeróbicas é reduzido a nitrito, óxido nítrico, óxido nitroso e nitrogênio molecular em um processo denominado desnitrificação.

Existe uma diversidade de microrganismos responsáveis por este processo de desnitrificação, destacando-se bactérias, fungos e espécies de algas. Dentre os microrganismos que realizam a desnitrificação, destacam-se os gêneros *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Proteus* e *Pseudomonas* (Kim *et al.*, 2005). Brock *et al.*, (1997) descrevem que a conversão de nitrato segue duas rotas distintas, conforme apresentado na Figura 3.3. Uma primeira via metabólica, redução assimilativa de nitrato, na qual o nitrato é convertido a amônia, e posteriormente, esta é utilizada com fonte de nitrogênio para o crescimento celular. A outra via metabólica, redução dissimilativa de nitrato consiste na utilização do nitrato como aceptor final de elétrons, sendo convertido a nitrogênio gasoso.

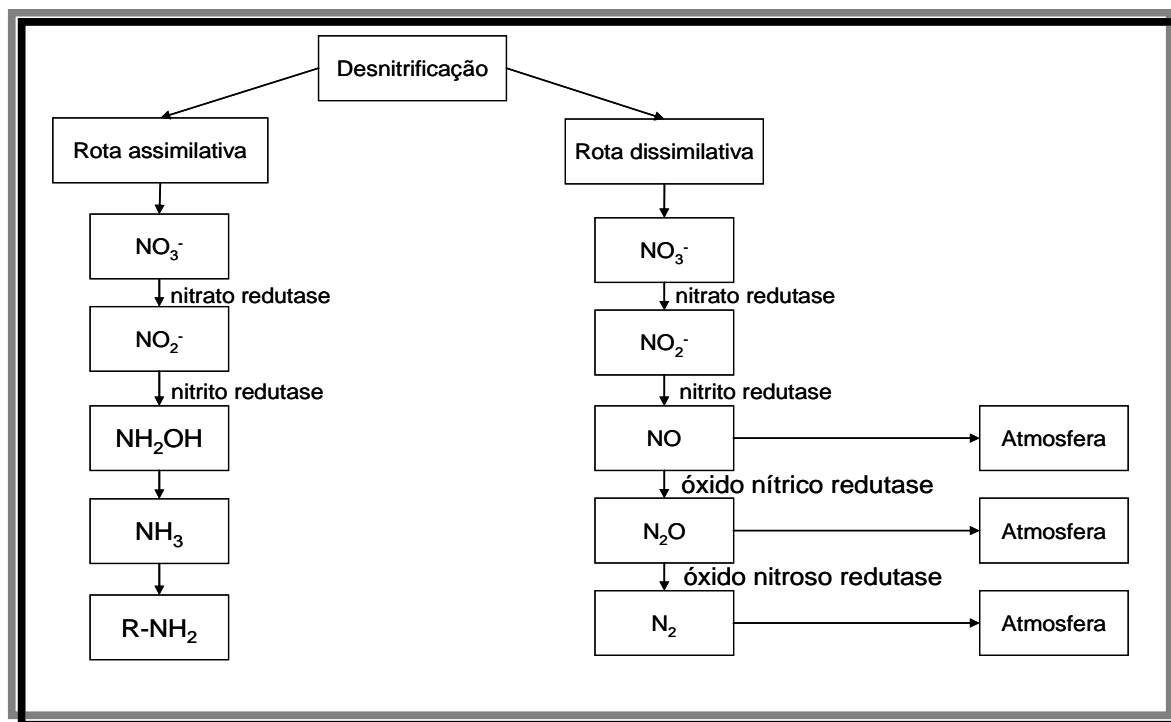
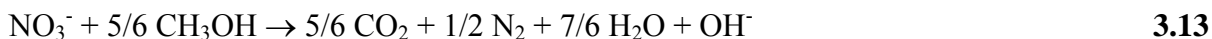


Figura 3.3: Vias metabólicas de redução de nitrato (Brock *et al.*, 1997)

A etapa inicial consiste na conversão do nitrato em nitrito, através da atividade da enzima nitrato redutase, e posterior conversão a hidroxilamina (realizada pela enzima nitrito redutase assimilativa, processo este que é inibido pela amônia) ou a óxido nítrico (pela óxido nítrico redutase, etapa realizada em condições anóxicas, sendo inibida a produção da enzima na presença de oxigênio). Seguindo o metabolismo assimilativo, a hidroxilamina é convertida em amônia e assimilada durante o crescimento celular. Na via dissimilativa, ocorre a formação de gases intermediários até a formação de nitrogênio gasoso (Brock *et al.*, 1997).

A formação de nitrogênio gasoso é possível a partir de dois processos distintos: desnitrificação heterotrófica e desnitrificação autotrófica.

A desnitrificação heterotrófica é realizada por distintos organismos, mas principalmente pelo gênero *Pseudomonas*, sendo estas bactérias heterótrofas facultativas. Assim, o nitrato é utilizado como aceptor de elétrons e a matéria orgânica é a doadora de elétrons (Schmidell & Reginatto, 2007). A estequiometria da desnitrificação heterotrófica com metanol via nitrato (Equação 3.13) e a estequiometria considerando a desnitrificação heterotrófica com crescimento celular via nitrato e via nitrito estão representados na Equação 3.14 e 3.15:



Analisando-se as Equações 3.14 e 3.15, observa-se que, na desnitrificação via nitrato, ocorre a formação de 0,45 gSSV.(gNO₃⁻)⁻¹ e 0,18 gSSV.(gCH₃OH)⁻¹, sendo necessário 2,47 gCH₃OH/gNO₃⁻. Para a desnitrificação via nitrito, ocorre a formação de 0,32 gSSV.(gNO₂⁻)⁻¹ e 0,21 gSSV.(gCH₃OH)⁻¹, sendo necessário 1,53 gCH₃OH.(gNO₂⁻)⁻¹ (Schmidell e Reginatto 2007). Estes valores evidenciam que, na desnitrificação via nitrato, é necessário um maior consumo de matéria orgânica (aproximadamente 1,6 vezes) quando comparado com a desnitrificação via nitrito. Dessa forma, em processo de tratamentos de efluentes têm-se promovido a nitrificação parcial, até nitrito, para posterior desnitrificação, reduzindo-se assim gastos energéticos (oxidação do amônio), e a quantidade de lodo gerado.

Entre os fatores intervenientes no processo de desnitrificação heterotrófica estão (Barnes & Bliss 1983; Schmidell & Reginatto 2007; Wrage *et al.*, 2001; Iamamoto, 2006):

- 1) pH: a condição ideal é em valores elevados, próximos a 8, pois, em valores abaixo de 7, ocorre a produção mais acentuada de óxidos de nitrogênio altamente tóxicos aos microrganismos
- 2) Temperatura: a desnitrificação é realizada em uma faixa de temperatura variável sendo o ótimo em 35°C
- 3) Concentração de oxigênio: a presença de oxigênio, nas concentrações de 0,3 a 1,5 mg.L⁻¹, inibe a atividade da enzima óxido nitroso redutase; além de funcionar como aceptor de elétrons em substituição ao nitrato
- 4) Relação C/N: a relação C/N é distinta para cada tipo de fonte de carbono. Em baixas relações, ocorre acúmulo de nitrato, nitrito e óxidos de nitrogênio e, em altas relações o nitrito ou nitrato podem ser reduzidos até amônia, com baixa conversão a nitrogênio gasoso. Na Tabela 3.1, observa-se alguns exemplos de relação C/N obtidas experimentalmente

Tabela 3.1: Relação C/N para diferentes fontes de carbono e de nitrogênio

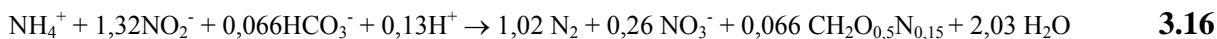
Tipo de Reator	Fonte de carbono	Forma de nitrogênio a ser desnitrificada	Relação C/N
Batelada	Acetato	NO ₂ ⁻	DQO/N= 2
Lodos Ativados	Melado	NO _x	DQO/N=5
SBR	Acetato	NO ₂ ⁻	C/N=3
Batelada	Efluente de suinocultura	NO ₃ ⁻	C/N=4,16
SBR	Metanol	NO ₃ ⁻	DQO/N=1,56

Fonte: Adaptado de Iamamoto, (2006)

A desnitrificação autotrófica é um processo de desnitrificação relativamente recente, e consiste na oxidação da amônia e redução do nitrito, processo este denominado ANAMMOX, Anaerobic Ammonium Oxidation (Gut, 2006; Schmidt *et al.*, 2003; Feng *et al.*, 2007). Acredita-se que as principais espécies responsáveis pela realização deste processo são *Candidatus Brocadia anammoxidans*, *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*, *Candidatus Scalindua brodae*, *Candidatus Scalindua wagneri*, *Candidatus Scalindua sorokinii* e alguns microrganismos do gênero *Nitrosomonas* (Ahn, 2006; Dong & Sun, 2007).

Ahn (2006) demonstra o metabolismo proposto para o processo de desnitrificação autotrófica, que consiste na oxidação da amônia e redução do nitrito tendo como intermediários a formação de hidrazina e hidroxilamina.

Strous *et al.* (1998) sugerem a estequiometria da desnitrificação autotrófica, que pode ser visualizada na Equação 3.16.



A estequiometria descrita na Equação 3.16 indica um crescimento autotrófico limitado, $0,11\text{gSSV} \cdot (\text{gN-NH}_4^+)^{-1}$ que, quando comparado com a desnitrificação heterotrófica, Equações 3.14 e 3.15, é menor ainda, prevendo-se assim processos com “start-up” longos. Considera-se ainda a necessidade de 1,32 mols de nitrito para cada mol de amônio a ser oxidado, e a formação de nitrato.

Os principais fatores que afetam o processo ANAMMOX são pH (6,7-8,3), temperatura (20-43°C), concentração de nitrito (inibição em concentrações de 20 mM de $\text{N-NO}_2^- \cdot \text{L}^{-1}$), oxigênio (as bactérias responsáveis pelo processo mostraram-se estritamente anóxicas, identicando-se inibição mesmo em concentrações de $2 \mu\text{MO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$) (Strous *et al.*, 1999).

3.1.2 Processos de tratamento de efluentes destinados à remoção de nitrogênio

Apresentados os fundamentos e princípios bioquímicos inerentes ao ciclo do nitrogênio, a seguir serão descritos os distintos processos de tratamento de efluentes.

3.1.2.1 Nitrificação e desnitrificação

O processo de nitrificação e desnitrificação, denominado processo convencional de remoção de nitrogênio, consiste em duas etapas. Na primeira etapa, realizada em condições aeróbias, é feita a conversão de amônia a nitrato, tendo o oxigênio comoceptor de elétrons e a amônia como doador de elétrons. Esta etapa, denominada de nitrificação, foi detalhada no item 3.1.1.4. Na segunda etapa, realizada em condições anóxicas, ocorre a remoção do

nitrogênio (desnitrificação) através da redução do nitrato, formado na primeira etapa, e da oxidação da matéria orgânica, presente no efluente ou adicionada a este. Percebe-se que para realizar as etapas de nitrificação e desnitrificação, existe uma diversidade de esquemas propostos, podendo ocorrer variações entre as fases anóxicas e aeróbias, na taxa de recirculação, entre outras. A forma mais simplificada de remoção de nitrogênio seria a ilustrada na Figura 3.4.

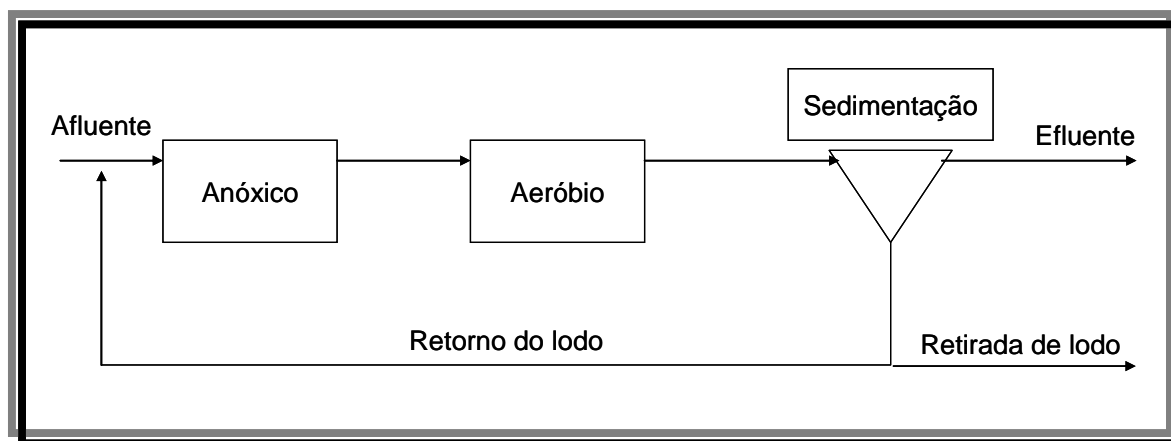


Figura 3.4: Sistema convencional de nitrificação e desnitrificação (Schmidell & Reginatto, 2007)

Este tipo de tratamento consiste na etapa de desnitrificação seguida da etapa de nitrificação. Inicialmente, ocorre a desnitrificação heterotrófica devido à presença de matéria orgânica no afluente. Caso o carbono neste afluente seja escasso, este pode ser adicionado por fontes externas. Na etapa aeróbia, ocorre a oxidação do amônio a nitrito ou nitrato. Por fim, há a sedimentação do lodo e recirculação deste. A eficiência do processo está relacionada à recirculação interna do efluente, podendo variar de 50% a 100% da vazão afluente (Schmidell & Reginatto, 2007).

Outro processo utilizado é o UCT (University of Cape Town), constituído de três zonas, anaeróbia, anóxica e aeróbia. Neste esquema, ocorrem duas recirculações internas, uma da zona anóxica para a zona anaeróbia, e outra da zona aeróbia para a zona anóxica. O reator anóxico deve promover a desnitrificação da carga de nitrato recirculada, e o reator anaeróbio tem como objetivo eliminar o excesso de material orgânico e permitir a seleção de microrganismos adequados aos demais reatores.

Pode-se citar também, como exemplo de processos destinados à remoção de nitrogênio, o Bardenpho de quatro estágios, processos em batelada, e processos de remoção

combinada de nitrogênio e fósforo, como Bardenpho cinco estágios, UCT modificado, entre outros.

A aplicação destes métodos se limita aos efluentes com baixa concentração de amônio, devido às dificuldades de dimensionamento e operação do sistema para elevadas concentrações. Assim surgiram novos processos de remoção de nitrogênio baseados na desnitrificação via nitrito. Estes processos possuem a vantagem de promover a redução energética, através da redução do consumo de oxigênio, descrita nas Equações 3.7 e 3.8; e nos casos com remoção heterotrófica, permite a economia de composto orgânico, conforme discutido no item 3.1.1.5. Entre os novos processos, destaca-se também a desnitrificação autotrófica, importante para efluentes com baixa relação C/N. Como desvantagem, estaria a possibilidade de nitrito residual, sendo assim necessário um tratamento complementar para a completa remoção.

Existem distintas possibilidades de se inibir as oxidadoras de nitrito, permitindo assim o acúmulo de nitrito no sistema. Entre as medidas adotadas estão (Ruiz *et al.*, 2006; Bougard *et al.*, 2006; Chuang, *et al.*, 2007; Pollice *et al.*, 2002):

- 1) Controle do pH: bactérias oxidadoras de nitrito são mais sensíveis à presença de amônia livre e o ácido nitroso do que as bactérias oxidadoras de amônia, assim em pH baixo ocorrerá a inibição da nitrificação
- 2) Concentração de oxigênio: a oxidação de nitrito é inibida em baixas concentrações de oxigênio, favorecendo o processo de nitrificação; isso é devido à maior sensibilidade das bactérias oxidadoras de nitrito em relação às de amônio ($0,3 - 0,5 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$)

Outros fatores como temperatura (acima de 25°C) e baixos tempos de residência celular (1 d) também são identificados como essenciais para o controle da nitrificação parcial, propiciando o crescimento de microrganismos oxidadores de amônio em detrimento dos oxidadores de nitrito (Corral *et al.*, 2005; Verstraete & Philips, 1998).

A seguir serão descritos os novos processos de remoção de nitrogênio.

3.1.2.2 Anammox

O processo ANAMMOX (Anaerobic ammonium oxidation) baseia-se na desnitrificação autotrófica, conforme já apresentado no item 3.1.1.5 sobre desnitrificação. Nos novos processos de tratamento, destinados à remoção de nitrogênio, é necessária realizar a nitrificação parcial. Entretanto, é um processo que ainda não está totalmente estabelecido principalmente sobre os microrganismos responsáveis pelo metabolismo.

Baseado na estequiometria da reação, ver Equação 3.16, percebe-se o crescimento autotrófico lento, o que indica processos com “start-up” demorado e, portanto dificuldades estabelecê-lo. Visando aumentar a eficiência do processo, tem-se utilizado reatores com retenção de biomassa (Hao *et al.*, 2002; Ahn, 2006; Van der Star *et al.*, 2007; Schmidt *et al.*, 2002).

Comparando-se este sistema com o tradicional (nitrificação e desnitrificação) o ANAMMOX tem a vantagem de menor demanda de oxigênio, e nenhum requerimento de fonte externa de carbono, que é inerente ao processo autotrófico. O fato de ter um crescimento lento é compensado pela baixa produção de lodo e, conseqüentemente, evita-se grandes volumes de lodo para tratamento posterior.

Atualmente, diferentes configurações de reator têm sido aplicadas para conversão de amônio pelo processo ANAMMOX, destacando-se leito fluidizado e SBR. Os reatores sequenciais em batelada são mais simples e mais estáveis às modificações de carga, podendo-se obter altas velocidades de conversão e os de leito fluidizado possuem a vantagem de aplicação de altas cargas de nitrogênio, $0,4 \text{ kg N-NH}_4^+ \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$, $0,7 \text{ kg N-NH}_4^+ \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$. O primeiro reator em escala real foi construído na Holanda para compor o tratamento posterior ao processo Sharon. O projeto foi calculado para ter um retorno de investimento em menos de 7 anos, devido à eliminação da adição de metanol para complementar a desnitrificação (Schmidt *et al.*, 2003).

3.1.2.3 Sharon

Este processo propõe a desnitrificação heterotrófica em um único reator, via nitrito (Single Reactor High Activity Ammonia Removal Over Nitrite). O processo SHARON foi desenvolvido pela Technical University of Delft (Verstraete & Philipps, 1998).

A aplicação do Sharon é sugerida para efluentes com alta carga de amônio, sendo necessário aplicar medidas de controle para promover a nitrificação parcial e acúmulo de nitrito (Volkje *et al.*, 2006, Verstraete & Philipps, 1998). Estudos recentes demonstram que uma forma de controle da nitrificação seria a operação de reatores com aeração intermitente, propiciando assim a oxidação do amônio e posterior redução do nitrito formado (Pollice *et al.*, 2002; Zdradek, 2005).

Em relação ao processo nitrificação-desnitrificação, o processo SHARON necessita de um investimento inicial menor, devido às dimensões do reator ser menores. Entretanto, os custos para controle operacional podem ser maiores. Isto se deve ao controle minucioso da temperatura, pH, concentração de substratos e de oxigênio e tempo de retenção hidráulico (Van Kempen *et al.*, 2001).

O processo é realizado devido à atividade de microrganismos do gênero Nitrosomonas, obtidos em reatores contínuos, operados com elevadas vazões específicas de alimentação (1 d^{-1}), temperaturas acima de 25°C , sem reciclo de células, permitindo assim o crescimento das oxidadoras de amônio e lavando as oxidadoras de nitrito (Schmidell & Reginatto, 2007). Assim, as transformações ocorridas no reator seriam a nitrificação, conforme a Equação 3.17, e a desnitrificação heterotrófica.

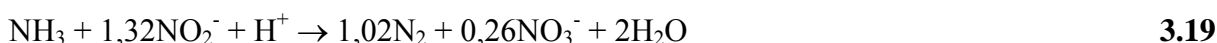


Avaliando-se os processos ANAMMOX e o SHARON é possível estabelecer uma combinação entre ambos, isto é, no processo Sharon pode-se definir condições operacionais para produzir um efluente apto a ser utilizado como afluente do ANAMMOX. Uma conversão de 50% de amônio-nitrito seria estabelecida no processo Sharon e em seguida conduzido ao reator ANAMMOX, completando a degradação pretendida (Van Dongen *et al.*, 2001). Corral *et al.* (2005) relataram que em um reator Sharon, destinado ao tratamento de um efluente industrial contendo $1000 \text{ mgN-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ obteve-se a condição equimolar ($\text{N-NH}_4^+ \cdot (\text{N-NO}_2^-)^{-1}$) operando-se o reator com TRH de 1 dia, pH 7,16, temperatura de 35°C , concentração celular de $30 \text{ mgSSV} \cdot \text{L}^{-1}$ e concentração de oxigênio de $2 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$. Dessa forma este efluente teria características físico químicas para ser aplicado a um reator anammox em seqüência.

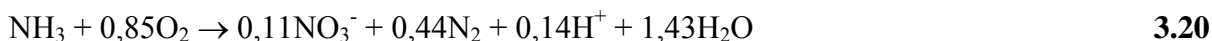
3.1.2.4 Canon

Este processo, “Completely Autotrophic Nitrogen-removal Over Nitrite”, ou seja, CANON, foi apresentado pelos pesquisadores que desenvolveram o processo ANAMMOX, e consiste na oxidação parcial da amônia a nitrito, em condições de limitação de oxigênio. Posteriormente, em condições anaeróbias a amônia residual é oxidada pelo nitrito formado, liberando assim N₂. Para realizar o processo Canon seria necessária a simbiose entre as bactérias autótrofas que oxidam amônia e as bactérias anammox, estabelecendo o processo em um único reator (Sliekers *et al.*, 2002; Third *et al.*, 2001).

As reações envolvidas no processo Canon podem ser visualizadas nas Equações 3.18 e 3.19 (Sliekers *et al.*, 2003):



E a reação global:



Comparando-se o processo Canon com o processo de nitrificação tradicional, percebe-se uma economia de 63% de consumo de oxigênio e de 100% de matéria orgânica, devido a remoção autotrófica de nitrogênio não consumir carbono orgânico (Third *et al.*, 2001).

Recentemente Sliekers *et al.* 2003 operaram um reator do tipo “gas-lift” em duas fases distintas. Em uma primeira etapa o reator foi alimentado com água residuária sintética contendo amônio e nitrito, gás argônio e dióxido de carbono (para eliminar a inibição devido à presença de oxigênio) estabelecendo assim o processo anaeróbio de remoção de amônio. Nesta fase, progrediu-se a carga de nitrogênio até a condição de 10,7 KgN.(m³.d)⁻¹, obtendo-se uma remoção de 8,9 KgN.(m³.d)⁻¹, o que indica uma eficiência de 83%.

Após 100 dias de operação do reator anaeróbio decidiu-se pesquisar a remoção de amônio em condições de limitação de oxigênio, no intuito de estabelecer o processo Canon, constituindo-se assim a segunda fase de operação do reator. Nesta etapa o reator foi alimentado com meio sintético contendo amônio, gás atmosférico eliminando-se a

alimentação com nitrito. Inicialmente houve um incremento de oxigênio, até que atingiu o valor de $0,5 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ após uma semana. Após este período, o processo aeróbio/anaeróbio já havia estabilizado, com uma eficiência de remoção de 39% de nitrogênio e de 92% de remoção do nitrogênio convertido. Concluiu-se que o processo Canon não apresenta uma eficiência maior do que o processo dito tradicional, mas consome menos oxigênio e matéria orgânica; enquanto que comparado com o processo Sharon – Anammox o Canon foi ligeiramente melhor. Destaca-se ainda o baixo custo de investimento, por ser compacto, e a necessidade de estudos para otimizar a transferência de oxigênio e retenção celular.

3.1.2.5 Oland

Este processo indica a possibilidade de remover nitrogênio a partir de amônio, operando o sistema em condições de limitação de oxigênio, por isso o nome Oxygen Limited Autotrophic Nitrification Denitrification. Em uma etapa inicial ocorre a oxidação do amônio com formação de nitrito através da adição de oxigênio em quantidade estequiométrica, e posteriormente a redução do nitrito formado oxidando amônio, liberando nitrogênio gasoso.

As seguintes reações definem a possibilidade de realização do processo OLAND (Verstraete & Philips, 1998):



E a reação global:



Comparando-se este processo ao “tradicional” observa-se uma economia de 62,5% de consumo de oxigênio e não é necessária a inserção de uma fonte doadora de elétrons, como a matéria orgânica (Verstraete & Philips, 1998).

O inóculo utilizado para esse processo Oland seria similar ao do Sharon, isto é, uma cultura enriquecida com nitrosomonas, para estabelecer a nitrificação parcial. Pesquisas recentes mostram que a eficiência deste sistema ainda é baixa, porém possui a vantagem de não necessitar de condições estritamente anaeróbias, ao contrário do anammox (Kuai & Verstraete, 1998; Windey *et al.* 2005).

Kuai & Verstraete 1998 pesquisaram a viabilidade de aplicação deste processo em um reator SBR, de 4 L, operado com reciclo total de células por sedimentação (1h sem agitação antes da retirada diária de líquido) com alimentação diária em dois períodos de 0,5 L e 1 L de meio, aplicando uma carga de 125 e 250 mgN.(L.d)⁻¹, respectivamente. O controle da limitação de oxigênio foi mantido através do pH, quando o reator estava num pH acima de 7,2, o sistema de agitação era acionado e rotações de 300 a 500 rpm eram produzidas, quando o pH diminuía até 7, o sistema de agitação era interrompido, de forma a permitir o consumo do N₂O e NO₃ gerados, até que o pH retornasse a 7,2 iniciando um novo ciclo. Os autores relatam que a capacidade de tratamento do sistema ainda é baixa, apresentando eficiências de remoção de nitrogênio de entre 15 e 40 %.

3.2 Ciclo do enxofre

O ciclo global do enxofre compreende um conjunto de transformações entre as espécies de enxofre presentes na litosfera, hidrosfera, biosfera e atmosfera. Compostos reduzidos de enxofre, principalmente o sulfeto de hidrogênio (H₂S), são formados por atividade bacteriana anaeróbica, no processo de oxidação de carbono orgânico a dióxido de carbono e redução de sulfato (SO₄²⁻) a sulfeto (S²⁻). Parte deste, ao reagir com íons metálicos é fixado, na forma de rochas e sedimentos. Além disso, a grande concentração de sais, principalmente sulfatos, presentes em mares e águas salobras.

Compostos contendo enxofre são amplamente utilizados na atividade industrial, nas formas de sais ou nas matérias primas, dessa forma, as águas residuárias apresentam elevada concentração de enxofre, seja na forma de sulfeto, sulfato, sulfitos, entre outras formas de enxofre.

O desequilíbrio do ciclo do enxofre ocasionado pelo homem promove distintos impactos ambientais, como a emissão de odor, corrosão de aço, liberação de metais e chuva ácida. A chuva ácida é um dos principais impactos provenientes da combustão de combustíveis fósseis, que contem elevadas concentrações de enxofre (na forma de pirita e S orgânico). Quando se queima este enxofre ocorre a conversão a SO₂, que devido à fotooxidação e a combinação com a umidade atmosférica forma H₂SO₄, promovendo-se assim a chuva ácida.

Estas transformações de enxofre podem ser visualizadas de forma simplificada na Figura 3.5.

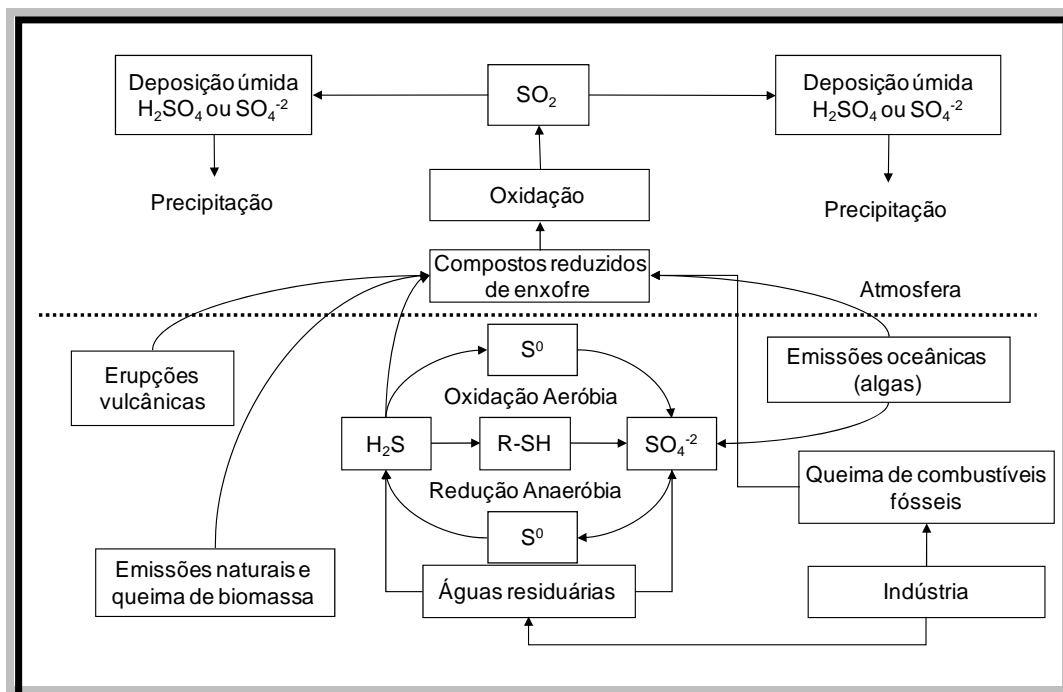


Figura 3.5: Ciclo global do enxofre

Segundo Brock *et al.* (1997) as transformações de enxofre são bem mais complexas do que as de nitrogênio devido à variedade do estado de oxidação do enxofre, bem como ao fato das reações químicas e biológicas ocorrerem velocidades significativas. Na Tabela 3.2 estão representados os principais estados de oxidação do enxofre.

Tabela 3.2: Estados de oxidação do enxofre em vários compostos

Forma	Exemplo	Estado de Oxidação
R-S	Enxofre Orgânico	-2
S ⁻²	Sulfetos	-2
S ⁰	Enxofre elementar	0
S ₂ O ₄	Hipossulfitos	+2
S ₂ O ₄ ⁻²	Ditionato	+3
SO ₃ ⁻²	Sulfito	+4
S ₂ O ₆ ⁻²	Ditionato	+5
SO ₄ ⁻²	Sulfato	+6

3.2.1 Conversão de enxofre: bioquímica e metabolismo

3.2.1.1 Assimilação de enxofre

De acordo com Brock *et al.* (1997) existe uma variedade de microrganismos que podem utilizar sulfato como fonte de enxofre em um processo denominado assimilação de sulfato. Este processo consiste na redução do sulfato, convertendo o HS^- formado em enxofre orgânico R-SH. A assimilação direta de sulfeto é dificultada pela toxicidade deste composto aos microrganismos.

3.2.1.2 Desulfurilação de enxofre

Consiste na decomposição de compostos orgânicos que compõem a matéria orgânica. Em processos de tratamento de efluentes que contêm efluentes com alta carga de matéria orgânica, a geração de odor é freqüente devido a emissão de H_2S . Através da decomposição e do processo de desulfurilação o enxofre retorna ao sistema constituindo-se novamente uma fonte de enxofre (Brock *et al.*, 1997).

Em ambientes marinhos a decomposição de organossulfurados produz principalmente sulfetos e dimetilsulfetos, que são liberados para a atmosfera. O sulfeto que não volatiliza para a atmosfera pode ser oxidado em condições aeróbicas ou anaeróbicas formando enxofre elementar ou sulfato. Estes por sua vez podem ser utilizados pelos microrganismos como aceptores de elétrons em outras vias metabólicas (Atlas *et al.*, 2002).

3.2.1.3 Redução de sulfato

Em ambientes anaeróbios contendo elevadas concentrações de sulfato, bactérias redutoras de sulfato promovem a conversão deste a sulfeto, em um processo denominado de redução de sulfato. Este grupo de microrganismos é geralmente composto de bactérias gram-negativas, mesofílicas ou termofílicas, heterotróficos e anaeróbicos estritos, além de competir com as bactérias metanogênicas em sistemas de tratamento de efluente (Wang & Banks, 2007; Zagury *et al.*, 2006; Stubner, 2004).

Algumas espécies dos gêneros, como *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum*, *Desulfobacter*, *Desulfococcus*, *Desulfonema*, *Desulfosarcina*, *Bacillus*, *Pseudomonas* são responsáveis pela remoção de sulfato (Ingvorsen *et al.*, 2003; Glombitza, 2001).

O metabolismo das bactérias redutoras de sulfato pode ser visualizado na Figura 3.6 (Brock *et al.*, 1997).

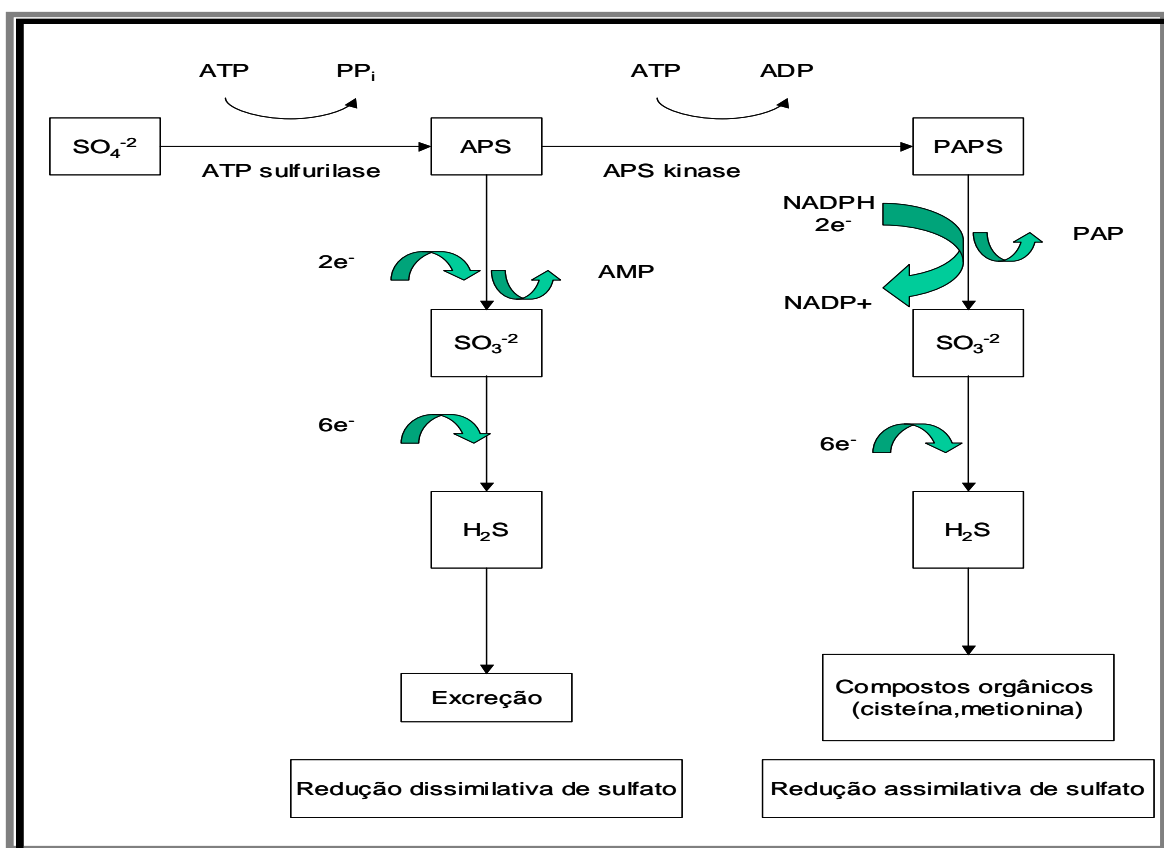


Figura 3.6: Metabolismo das bactérias redutoras de sulfato (Brock *et al.*, 1997)

A redução de sulfato pode ocorrer por duas rotas metabólicas, sendo uma assimilativa e outra dissimilativa. A enzima ATP sulfúrilase cataliza a reação do ATP com o sulfato formando adenosina fosfosulfato (APS), que é o substrato para as vias metabólicas. Na redução dissimilativa o sulfato é reduzido diretamente a sulfeto (SO_3^{2-}) e em seguida a sulfeto de hidrogênio, sendo liberado para a atmosfera. Na redução assimilativa é adicionado um átomo de fósforo a APS, formando fosfoadenosina fosfosulfato (PAPS), e somente depois o sulfato é reduzido a sulfeto, sulfeto e convertido em composto orgânico (Brock *et al.*, 1997).

Várias substâncias podem ser utilizadas como doadores de elétrons no processo de redução de sulfato, destacando-se o hidrogênio, acetato, butirato, fumarato, piruvato,

compostos aromáticos, etanol, metanol, dentre outros (Hansen, 1988; Moosa *et al.*, 2002; Menert *et al.*, 2004).

Os principais fatores que afetam o processo de redução de sulfato são o pH (7,75 – 8,40), temperatura (para mesofílicas de 34 – 37°C e para termofílicas 50 - 70 °C), relação carbono/sulfato, além de outros fatores como competição com bactérias metanogênicas (De Smul *et al.*, 1999; Atlas *et al.*, 2002).

3.2.1.4 Oxidação de sulfeto

Em ambientes aeróbicos, o sulfeto pode ser convertido a sulfato, tendo o enxofre elementar como intermediário. Este processo pode ocorrer por bactérias quimiolitotróficas respiradoras de oxigênio que utilizam o sulfeto como doador de elétrons, ou em presença de luz, por bactérias fotossintéticas anóxicas.

Os gêneros *Beggiatoa*, *Thioploca*, *Thiothrix*, *Thermothrix*, *Thiomicrospira* possuem espécies capazes de oxidar o sulfeto a enxofre elementar e sulfato em condições aeróbias, Equação 3.24 e 3.25 (Gadekar *et al.*, 2006; Ahonen & Tuovinen, 1990; Davydov, 2003).



São apresentados na Tabela 3.3 as principais bactérias oxidadoras de enxofre, e as condições de pH ideais (Kleijjan, 2005).

Tabela 3.3: Bactérias que realizam a oxidação de enxofre

Organismo	Energia	Fonte de carbono	Glóbulos de enxofre	pH para crescimento
<i>Thiobacillus thioparus</i>	Quimiotrófico	autotrófico	extracelular	6-8
<i>Thiobacillus denitrificans</i>	Quimiotrófico	autotrófico	extracelular	6-8
<i>Thiobacillus sp. W5</i>	Quimiotrófico	autotrófico	extracelular	7-9
<i>Allochromatium vinosum</i>	Fototrófico	mixotrófico	intracelular	7,5
<i>Halorhodospira abdelmalekii</i>	Fototrófico	mixotrófico	extracelular	8,4
<i>Beggiatoa alba</i>	Fototrófico	mixotrófico	intracelular	-
<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	Quimiotrófico	autotrófico	extracelular	2-5
<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	Quimiotrófico	mixotrófico	extracelular	2-6
<i>Oscillatoria limnetica</i>	Quimiotrófico	autotrófico	extracelular	6,8

Fonte: Kleijian, 2005

Espécies como *Desulfocapsa thiozymogenes* oxidam sulfeto em condições anaeróbicas, tendo como aceptor de eletrons substâncias como MnO_2 (Bottcher & Thamdrup, 2000). Algumas espécies de *Thiobacillus* têm a capacidade de converter o sulfeto a enxofre elementar e oxidar este a sulfato. Destaca-se ainda a espécie *Thiobacillus denitrificans* que utiliza nitrato como aceptor de elétrons podendo oxidar o enxofre elementar em condições anaeróbicas (Visscher *et al.* 1993; Wang *et al.* 2005).

3.2.2. Processos de tratamento de efluentes destinados à remoção de enxofre

3.2.2.1 Remoção de sulfato

Em tratamento de efluentes destinados a remoção de enxofre, a conversão de sulfato consiste basicamente na atuação das bactérias redutoras de sulfato, que promovem a redução do sulfato a sulfeto. O sulfeto formado pode ser eliminado como H_2S , promovendo a liberação de odor, ou conduzido a um processo oxidativo para formação de enxofre elementar e conseqüente precipitação, ou ainda pode ser precipitado na forma de sulfeto. As BRS

competem com as bactérias acidogênicas, arqueas metanogênicas hidrogenotróficas e acetoclásticas por substratos disponíveis (Lens *et al.*, 1998).

Os principais reatores destinados a remoção de sulfato são os reatores de meio físico de adesão e os de grânulo auto imobilizado. No primeiro, a biomassa imobilizada em meio poroso como PVC, carvão ativado, polietileno, permite elevar o tempo de residência celular e conseqüentemente a formação de biofilme, pelo qual o efluente atravessa, promovendo assim o tratamento do efluente. No segundo, ocorrem a imobilização através de grânulos, como os reatores UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket), amplamente utilizados no tratamento de águas residuárias (Da Silva, 2005).

Kuo & Shu (2004) pesquisaram a remoção anaeróbia de sulfato em reator com células imobilizadas em triacetato celulose. Acredita-se que a imobilização das células, além de manter uma concentração celular elevada, de $13,2 - 13,5 \text{ gSSV.L}^{-1}$, contribuiu para a diminuição da inibição pelo sulfeto formado e pelo aumento da tolerância ao composto (aproximadamente 450 mgS.L^{-1} de sulfeto dissolvido). Destaca-se ainda que a concentração de 280 mgS.L^{-1} de sulfeto dissolvido já tenha inibido a atividade das metanogênicas. A eficiência do processo variou de 71% a 98%.

Baskaran & Nemati (2006) estudaram o efeito da carga volumétrica de aplicação de sulfato em um reator com células imobilizadas em meio arenoso. Tendo como inóculo uma biomassa originária de um reservatório de óleo, e bactérias SBR. Para as concentrações de 1; 2,5 e $5 \text{ gSO}_4^{-2}.\text{L}^{-1}$ as melhores redução de sulfato foram de 1,7; 0,8; $0,7 \text{ gSO}_4^{-2}.\text{(L.h)}^{-1}$. Constatou-se que ao contrário de reatores com células suspensas, o aumento na concentração de sulfato, promoveu uma redução de remoção do mesmo, e incompleta oxidação da matéria orgânica. Uma das possíveis causas seria a baixa atividade do consórcio microbiano empregado no estudo.

Sipma *et al.* (1999) pesquisaram a remoção de sulfato em dois reatores UASBs, sendo o primeiro alimentado com uma razão $\text{DQO}/\text{SO}_4^{-2} = 1,33$ e o segundo $\text{DQO}/\text{SO}_4^{-2} = 6,67$. O inóculo utilizado foi uma mistura de lodo sulfetogênico e metanogênico. A eficiência de remoção no reator 1 foi de 50% e no reator 2 de 95%. A baixa eficiência do reator 1 pode ser explicada pela disponibilidade limitada de substratos a ser oxidado, constatou-se ainda a necessidade de adição de “strip-gas” (N_2) para realizar o stripping completo do sulfeto. Já no reator 2 a produção de CH_4 e CO_2 inerentes do processo anaeróbio de degradação de matéria orgânica foi suficiente para a completa remoção do sulfeto gerado.

Hoa *et al.* (2007) investigaram a viabilidade de redução de sulfato utilizando etanol como fonte de elétrons e posterior precipitação do sulfeto gerado no reator UASB. Inicialmente operou-se o reator com uma relação DQO/S de 15/1 até que a redução para 2/1. A partir deste momento manteve-se a concentração de DQO em 300 mg.L⁻¹ e de sulfato em 150 mgS-SO₄⁻².L⁻¹. Estabelecido o processo sulfetogênico, partiu-se para a segunda etapa do processo, a remoção do sulfeto gerado através da precipitação com metal pesado, o chumbo. Para a remoção do sulfeto com chumbo é essencial a manutenção do pH em uma faixa de 7,5 – 8,5, faixa esta típica de formação de precipitados sulfurosos. Obteve-se eficiência de remoção de DQO de 78%, sulfato de 50% e de 85 a 95% do sulfeto gerado foi removido por precipitação.

3.2.2.2 Remoção de sulfeto

A remoção de sulfeto consiste na oxidação deste a enxofre elementar, e posterior remoção do enxofre precipitado simultâneo a biomassa; na precipitação do sulfeto com íons metálicos ou através do “stripping” do gás.

Krishnakumar *et al.* (2005) realizaram estudos em um reator RFLR (Reverse Fluidized Loop Reactor) destinados à oxidação aeróbia de sulfeto com a finalidade de formação de enxofre elementar. O reator foi alimentado com água residuária sintética, variando-se a carga de sulfeto 30, 22 e 18.8 kg S⁻².(m³.d)⁻¹, de acordo com o pH 8; 9; e 9,5 respectivamente. Para se evitar a oxidação até sulfato controlou-se o processo através do pH e do potencial redox. Obteve-se para a condição de carga de 30 Kg S⁻².(m³.d)⁻¹, e pH 8 a melhor eficiência de remoção de sulfeto, 90%, sendo 65% recuperado como enxofre elementar. A formação de enxofre elementar foi otimizada devido ao controle do ORP. Relata-se ainda que a medida que o sistema perdeu em atividade houve o acúmulo de intermediários como tiosulfato e polisulfetos.

Para uma adequada remoção de sulfeto através da precipitação de enxofre elementar é necessário a formação de agregados de enxofre, facilitando sua remoção. Sabe-se que o tamanho dos agregados de enxofre relaciona-se diretamente com a taxa de aplicação de sulfeto no reator biológico. Dessa forma Janssen *et al.* (1999) investigaram a oxidação de sulfeto em uma corrente gasosa, com o a finalidade de compreender a formação de enxofre elementar. Os autores propuseram um reator de leito expandido com aeração externa para oxidação do sulfeto, conforme esquema apresentado na Figura 3.7. Neste sistema a aeração da

fase líquida e a oxidação do sulfeto a enxofre elementar são processos espacialmente separados. O objetivo de separar a fase aerada do reator é diminuir o cisalhamento dos flocos bacteriano, propiciando um aumento do flocos, e conseqüentemente, da carga de aplicação de enxofre ao reator. De acordo com os autores, para este sistema após 50 dias de operação 90% do lodo sedimentava com velocidade maior que 25m.h^{-1} .

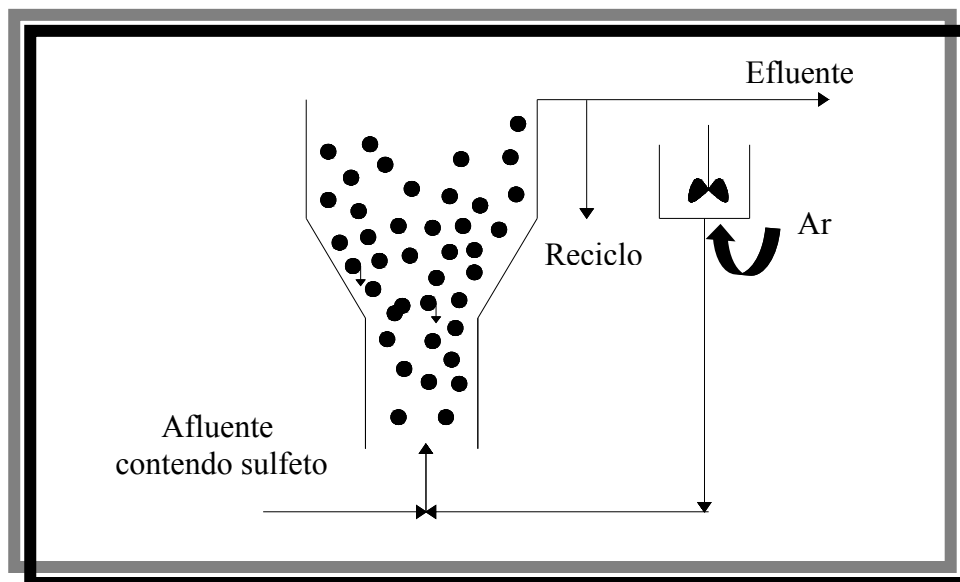


Figura 3.7: Reator de leito expandido (Janssen et al., 1999)

3.3 Integração dos ciclos biogeoquímicos do nitrogênio e do enxofre

Nos capítulos anteriores foram apresentadas as transformações bióticas que ocorrem com o nitrogênio e o enxofre na natureza, além daquelas que envolvem a transformação da matéria orgânica. A integração do ciclo do carbono como o ciclo do enxofre foi descrita em tópicos anteriores, assim como a integração do ciclo do nitrogênio e do carbono. Essa relação dos ciclos ocorre devido à oxidação da matéria orgânica via redução de sulfato e nitrato respectivamente. A interação destes ciclos tem sido bastante pesquisada, e resultados estão amplamente difundidos na literatura. No entanto, as águas residuárias domésticas e industriais são de composição complexa, muitas vezes possuindo estes compostos simultaneamente. Portanto, uma melhor noção das interações entre os microrganismos em sistemas naturais deve ser analisada, destacando-se a integração nitrogênio e do enxofre. Na Figura 3.8 está representada a integração dos ciclos do carbono, nitrogênio e do enxofre.

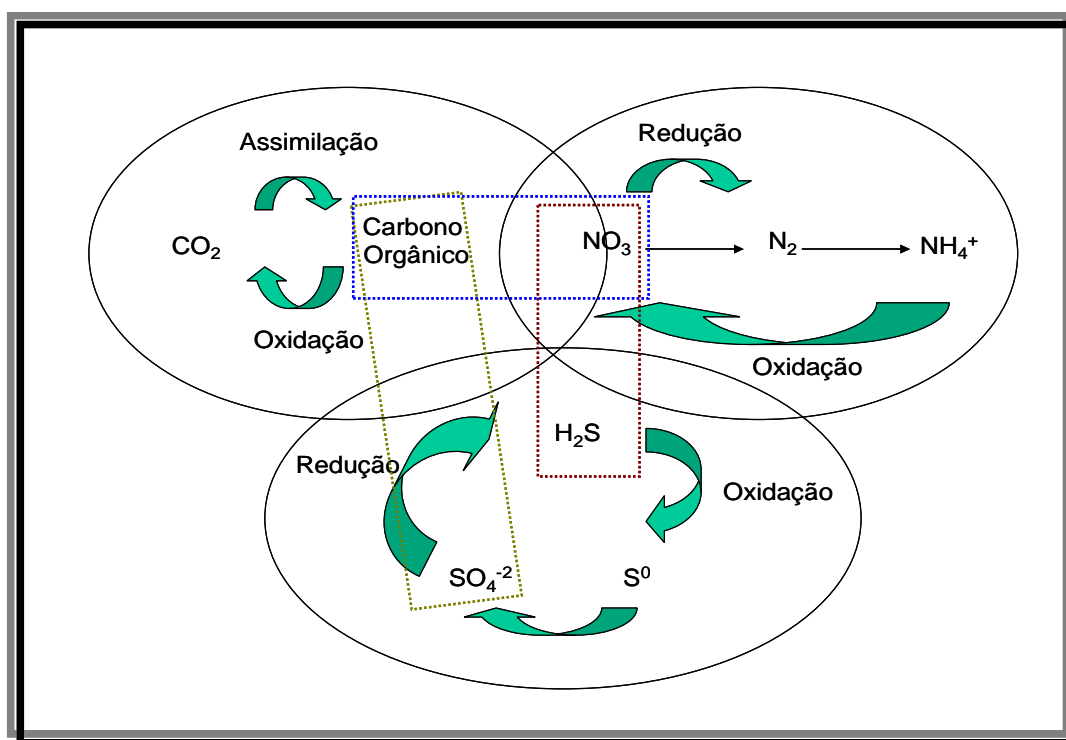
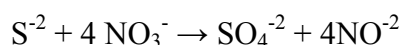


Figura 3.8: Integração dos ciclos do carbono, nitrogênio e enxofre (Santana, 2006)

Recentemente pesquisas no âmbito de tratamento de efluentes dedicam-se avaliar as interações microbianas que ocorrem nos ciclos do enxofre e do nitrogênio. Esta interação é devida ao processo denominado desnitrificação autotrófica via integração dos ciclos do nitrogênio e do enxofre. Entre os microrganismos que realizam este processo destacam-se o *Thiobacillus denitrificans* e *Thiomicrospira denitrificans*.

Kodama & Watanabe (2003) isolaram um microrganismo, cuja sequência de genes se assemelhou 90% ao de *Thiomicrospira denitrificans*. Este microrganismo é considerado uma espécie da ϵ subdivisão da classe Proteobacteria, constitui microrganismos presentes em cavidades de armazenamento de óleo. Crescimento em condições anaeróbias mostrou que este é quimioautotrófico obrigatório, oxidadores de enxofre, tendo como doadores de elétrons sulfeto, enxofre elementar, tiosulfato e hidrogênio, e nitrato comoceptor de elétrons. A estequiometria da reação de desnitrificação, apresentada na Equação 3.26, mostra que a redução de nitrato termina em nitrito. Estes autores compararam as características microrganismo isolado (YK-1) e *Thiobacillus denitrificans* (Tabela 3.4).



3.26

Tabela 3.4: Comparação das características do microrganismo isolado por Kodama & Watanabe, (2003) e *Thiobacillus denitrificans*

PARÂMETROS	YK-1	<i>T.denitrificans</i>
Largura (µm)	0,4	0,3
Comprimento (µm)	1 a 2	variável
Esporo	-	-
Gram	-	-
Crscimento/Temperatura	10 a 35	22
Crescimento/pH	6-8	7
NaCl (%)	0-1	3
FONTE DE CARBONO		
CO ₂ ou bicarbonato	+	+
Acetato	-	ND
Glicose, octano, benzeno, tolueno	-	ND
Crescimento/fermentação	-	ND
Crescimento/aeróbico	-	-
CRESCIMENTO/MICROAERÓBIO (1% O ₂)		
HS ⁻	+	+
S ₂ O ₃ ⁻²	+	+
S ₀	+	ND
H ₂	+	ND
CRESCIMENTO ANAERÓBIO (NO ₃ ⁻) COM OXIDAÇÃO		
DE:		
HS ⁻	+	+
S ₂ O ₃ ⁻²	+	+
S ₀	+	ND
H ₂	+	ND
Produto da desnitrificação de NO ₃ ⁻ com oxidação de HS-	NO ₂ ⁻	ND
Crescimento Anaeróbico com redução de NO ₂ ⁻	-	+

+ =Positivo; - = Negativo; ND = não determinado. (Kodama & Watanabe, (2002), adaptado)

Apesar de novas informações terem sido relatadas na literatura sobre o *Thiobacillus denitrificans*, após a publicação deste artigo já se pode observar a versatilidade do *Thiobacillus* diante do *Thiomicrospira*. *Thiobacillus denitrificans* realiza a desnitrificação total enquanto *Thiomicrospira* a parcial.

A desnitrificação autotrófica via enxofre ocorre principalmente pela atuação do microrganismo *Thiobacillus denitrificans*. Esta espécie de microrganismo foi isolada pela primeira vez em 1904 por Beijerinck, e estudos atuais o caracterizam como anaeróbia facultativa, quimioautotrofica obrigatória, membro do β -Proteobacteria (Wang *et al.*, 2005; Beller *et al.*, 2006_a). Possui a capacidade de crescer em condições aeróbias, além de, em condições anaeróbias oxidar compostos de enxofre (sulfeto, sulfito, tetrionato e enxofre elementar) utilizando nitrato, nitrito e óxidos de nitrogênio comoceptor final de elétrons, além da capacidade de fixar CO₂. A versatilidade metabólica propicia alteração entre condições aeróbias e anaeróbias, e produção de enzimas como nitrato redutase; apresentando assim grande aplicação em sistemas de tratamento biológico. As condições ótimas para crescimento é temperatura entre 28 e 30 °C, faixa de pH entre 6 – 8, e sais de amônio e nitrato como fonte de nitrogênio. São encontrados em meio de água doce, sedimentos marinhos, lodo de tratamento de esgotos entre outros (Kelly & Wood, 2000; Kleijan, 2005; Wang *et al.*, 2005).

Beller *et al.* (2006_a) e Beller *et al.* (2006_b) pesquisaram e identificaram o genoma completo do *Thiobacillus denitrificans* (ATCC 25259). A identificação completa dos genomas permite elucidar mecanismos de oxidação aeróbia e anaeróbia de compostos de enxofre, além de revelar componentes genéticos envolvidos na respiração aeróbia, metabolismo de hidrogênio, metabolismo do carbono, desnitrificação e metabolismo intermediário. A seguir apresenta-se uma síntese dos resultados de identificação do genoma do *Thiobacillus denitrificans*.

- a) Oxidação de compostos de enxofre: o estudo de Beller *et al.* (2006^a) identificaram que o *T. denitrificans* contém os genes que codificam as enzimas necessárias para catalisar a oxidação de sulfito para sulfato. Estas enzimas, exceto uma, é usada na direção inversa (sulfato-sulfito) por bactérias redutoras de sulfato para a ativação de sulfato para APS (adenylylsulfate) e posteriormente redução de APS para sulfito. O genoma do *Thiobacillus denitrificans* inclui outros genes que desempenham uma função no

metabolismo de oxidação do enxofre, inclusive sulfeto quinona oxidoreductase (Tbd1407, Tbd2225) e rodanese (tiosulfato-enxofre-transferase; Tbd1650, Tbd2399, Tbd2489), responsáveis pela conversão de sulfeto e tiosulfato a sulfito. Genes para sulfoxido redutase (DMSO) de dimetil (Tbd0570.Tbd0572) e redutase de tetrathionato (Tbd1739.Tbd1741) são também apresentados no referido genoma. O genoma de *T. denitrificans* não codifica a tiocianato hidrolase, assim não realiza a oxidação de tiocianato. Na Figura 3.9 está descrito os genes responsáveis pelo processo de oxidação de composto de enxofre.

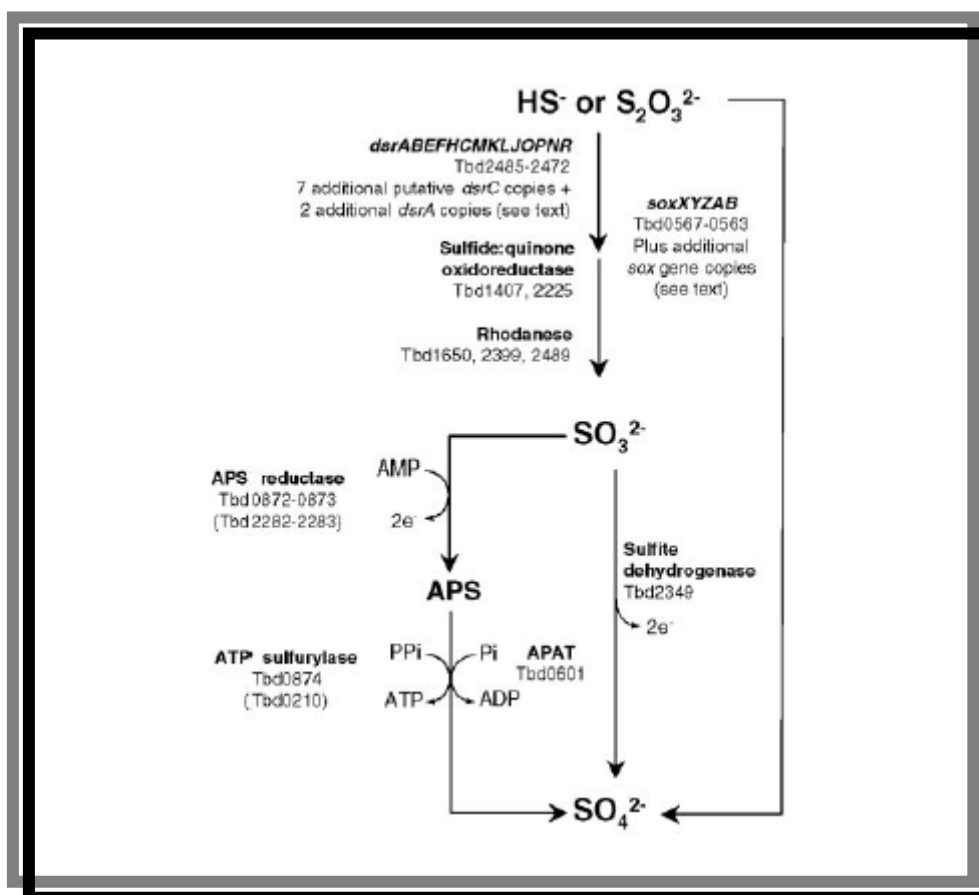


Figura 3.9: Genes que participam do processo de oxidação de composto de enxofre (Beller et al., 2006a)

b) Metabolismo de hidrogênio: a análise do genoma de *T. denitrificans* revela a presença de codificação de genes para duas hidrogenases (Ni e Fe). Hidrogenases são metaloenzimas que catalisam a oxidação reversível de H_2 a prótons e são componentes vitais do metabolismo de energia de muitos micróbios. Notavelmente, não foram informados a possibilidade codificação de hidrogenases em *T. denitrificans*, e a sequência de genes não faz parecer que

Thiobacillus possa crescer em meio contendo hidrogênio como um doador de elétrons exclusivo.

c) Respiração aeróbia: o genoma do *Thiobacillus denitrificans* codifica toda a maquinaria necessária para a respiração aeróbia, incluindo NADH; ubiquinona oxidoreductase (complexo I; Tbd1142–Tbd1155), succinato dehidrogenase (complexo II; Tbd1182–Tbd1185), e citocromo bc₁-tipo ubiquinol oxidoreductase (complexo III; Tbd1831–Tbd1833). Estes compostos podem promover a redução necessária para a respiração utilizando oxigênio ou nitrato como aceptor final, juntamente com um dos três citocromo c oxidases codificadas por dois genes agrupados no genoma do *Thiobacillus*.

O primeiro conjunto de genes codifica aa3-tipo citocromo c oxidase (Tbd0325, Tbd0326, Tbd0328, Tbd0330) e cbb3-tipo citocromo c oxidase (Tbd0338–Tbd0341), e o segundo grupo de genes (Tbd0640–Tbd0643) codifica o segundo cbb3-tipo citocromo c oxidase. A presença de ambos aa3- e cbb3-tipo oxidases, aliado a maquinaria da desnitrificação permite ao *T. denitrificans* sobreviver em condições de ampla faixa de redox. Presume-se que aa3 oxidase opera em condições de alta concentração de oxigênio, o cbb3 oxidases em condições microaerofílicas, e o complexo de desnitrificação em condições anaeróbias.

d) Desnitrificação: *T. denitrificans* tem toda a codificação de genes necessária para as quatro enzimas essenciais que catalisam a desnitrificação, nitrato redutase; nitrito redutase; óxido nítrico redutase e óxido nítrico redutase.

e) Autotrofia: o genoma deste quimiolitotrofo obrigatório codifica ambos as forma I e forma II ribulose 1,5-bisfosfato, enzimas de carboxylase / oxygenase (RubisCO) para fixação de CO₂.

f) Metabolismo intermediário central: não há registros de armazenamento de materiais orgânicos em *Thiobacillus denitrificans*, mas a presença de genes que codificam síntese de glicogênio (Tbd2057), maltooligosil trealose sintase (Tbd1174), e várias enzimas glucan se ramificando e glucano e glicosil transferases sugerem que a bactéria sintetiza um produto de armazenamento de poliglicose. O gene para a enzima fundamental do caminho de Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) necessário para isto efetuar gluconeogenesis (frutose 1,6-bisfosfato) está presente no genoma (Tbd2577). A síntese deste produto de armazenamento seria uma razão para a presença de genes para glucoquinase (Tbd2062, Tbd2216) que poderia ajudar assim no catabolismo endógeno de armazenamento de poliglicose. Vários genes que

codificam enzimas para hidrólise de polissacarídeos também parecem estar presentes: β -galactosidase (Tbd2429), vários glycosidases (Tbd0727, Tbd0923, Tbd1172,) e transferases de glicosil (por exemplo, Tbd0289, Tbd0293, Tbd0294, Tbd0301, Tbd2139), um α -mannosidase (Tbd2060), e α -arabinofuranosidase (Tbd1789).

Santana (2006) realizou também distintos ensaios com a cultura pura de *Thiobacillus denitrificans*. Observou-se que ao adicionar extrato de levedura ao meio proposto pela ATCC houve um crescimento 10 vezes maior que nos ensaios com meio autotrófico, e acredita-se que o composto tenha sido utilizado como fonte de vitaminas e micronutrientes para o crescimento do microrganismo. Entretanto a adição de glicose alterou o processo catabólico, visto que houve uma redução do sulfato formado, provavelmente pela utilização da glicose como doadora de elétrons para a cadeia respiratória, reduzindo assim o nitrato.

3.4 Processos de tratamento destinados à remoção combinada de nitrogênio e enxofre

Pesquisas recentes visam aperfeiçoar os conhecimentos sobre *Thiobacillus denitrificans* com o intuito de desenvolver sistemas destinados à remoção combinada de nitrogênio e enxofre.

Wang *et al.* (2005) descreve o processo global de remoção combinada de carbono, nitrogênio e enxofre. Neste processo, realizado em três reatores, ocorre a conversão de sulfato a sulfeto e a mineralização da matéria orgânica em um primeira etapa; posteriormente a conversão de sulfeto a enxofre elementar e de nitrato a amônio, e por fim um reator nitrificante com reciclo de efluente. Dessa forma é essencial o entendimento de cada etapa do processo para a compreensão da integração completa dos ciclos. A Figura 3.10 apresenta uma representação esquemática do processo proposto.

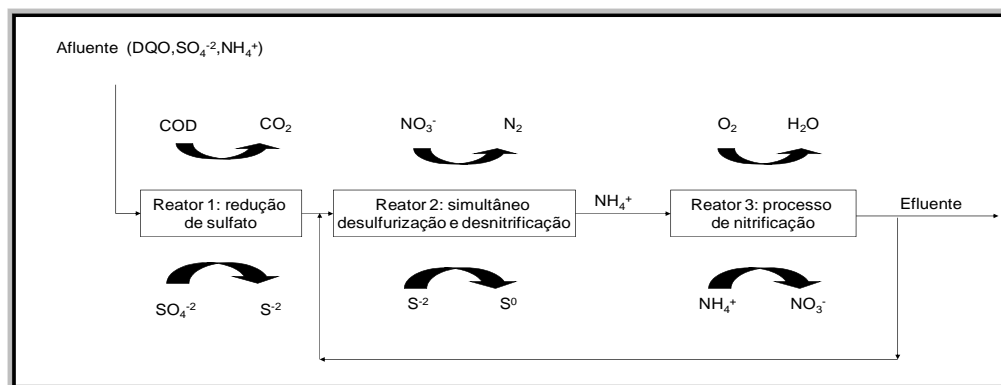


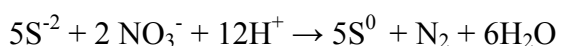
Figura 3.10: Processo de remoção de carbono, nitrogênio e enxofre (Wang et al., 2005)

Santana (2006) promoveu estudos de eliminação autotrófica de nitrogênio via interação dos ciclos do enxofre e nitrogênio em um reator SBR (oxidação de amônio, redução de nitrato formado e oxidação de tiosulfato). O objetivo inicial era formação de enxofre elementar, entretanto houve a oxidação de tiosulfato a sulfato, indicando que a relação S/N e o controle de oxigênio, principalmente a limitação deste é essencial para a geração de S₀.

Ma *et al.* (2006) estudaram a remoção de altas concentrações de H₂S usando o *Thiobacillus denitrificans* imobilizado com turfa, madeira, carbono ativado (GAC) e granular separadamente. Os resultados mostraram que GAC proveu melhor capacidade de adsorção de bactéria, mais resistência para choques de carga além de permitir melhor controle operacional. Quando o tempo de retenção foi mudado de 30 para 100 s a uma concentração de 100 mg.L⁻¹ de H₂S, a eficiência de remoção estava em torno de 98%; quando a concentração de H₂S foi mudada de 110 para 120 mg.L⁻¹. A análise cinética mostrou que a máxima remoção e a constante de saturação do bioreactor de GAC eram 666,7 mg(H₂S) . (L .d)⁻¹ e 20,8 mgH₂S.L⁻¹, respectivamente.

Dalsgaard & Bak (1992) realizaram experimentos para avaliar o efeito do acetileno na redução de óxidos de nitrito e oxidação de sulfeto em processos em batelada em uma cultura de *Thiobacillus denitrificans*. Sem a presença de acetileno observou que todo o sulfeto alimentado era convertido a sulfato e o óxido de nitrogênio a gás (N₂), tendo como intermediário o enxofre elementar. Na presença de C₂H₂, porém, a oxidação de H₂S finalizou em enxofre elementar e nenhum SO₄⁻² foi produzido. Este é um efeito inibitório desconhecido. Sugere-se que a inibição aconteça na enzima sulfito redutase que catalisa a oxidação de enxofre elementar para SO₃⁻² em *T. denitrificans*. Porém, a redução de N₂O não foi afetada por C₂H₂.

Wang *et al.* (2005) investigaram a cinética de desnitrificação, com cultura pura de *Thiobacillus denitrificans*, em processos em batelada e contínuo, utilizando sulfeto de hidrogênio como doador de elétrons e nitrato como aceptor. Concluiu-se que os fatores determinantes para estabelecimento do processo são a razão S⁻²/NO₃⁻ (5/3 e 5/2 sendo as ideais) e a concentração de sulfeto (menor que 300 mgS⁻².L⁻¹). Os mesmos autores propuseram a estequiometria de remoção de nitrato e conversão de sulfeto para enxofre elementar, conforme apresentado na Equação 3.27.



3.27

A formação de enxofre elementar é viável ambientalmente, pois além de ocorrer a remoção de compostos que geram odor o enxofre elementar pode ser recuperado agregando valor ao resíduo. Esta recuperação é possível, pois durante o metabolismo celular ocorre a formação de enxofre elementar extracelular (Tabela 3.3, pág.28). Jansen *et al.* (1998) pesquisaram a conversão de sulfeto de hidrogênio a enxofre elementar, assim como as propriedades coloidais do enxofre elementar biológico. De acordo com os autores o enxofre elementar constitui-se de glóbulos transparentes, extracelular, conforme apresentado na Figura 3.11 ou intracelular, podendo atingir o diâmetro de 1 μm , forma esférica ou elipsoidal, e na forma cristalina S_8 é solúvel em acetona, clorofórmio, etanol, disulfeto de carbono. Ainda não foi demonstrado que os glóbulos de enxofre são constituídos exclusivamente por enxofre.

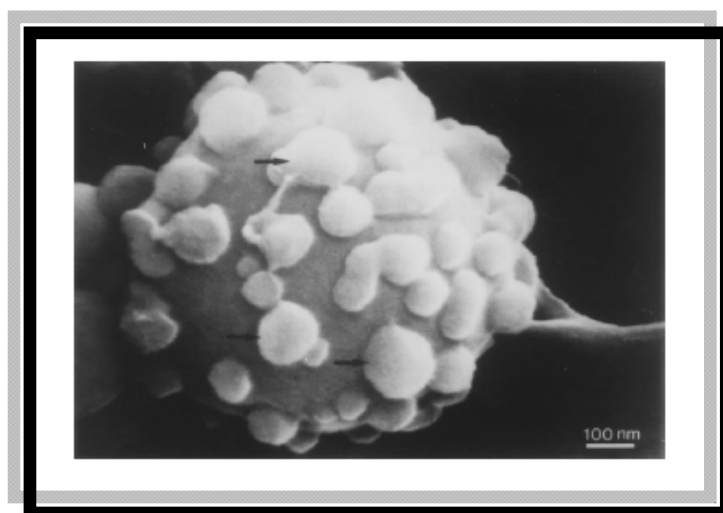


Figura 3.11: Enxofre elementar extra-celular (Jansen et al., 1998)

Analizando o efeito da matéria orgânica na desnitrificação autotrófica para uma cultura mista Oh *et al.* (2001) verificaram que em condições mixotróficas houve uma maior eficiência de remoção de nitrato quando comparado com o processo autotrófico. Isto é devido à ocorrência de remoção simultânea de nitrato, autotrófico e heterotrófico. Neste estudo utilizaram-se grânulos de enxofre como fonte de enxofre.

Outros processos associam a desnitrificação autotrófica com o processo de filtração por membrana. Neste caso há a imobilização da biomassa, o que permite uma retenção maior da biomassa. Kimura *et al.* (2002) realizaram este estudo, sendo utilizados grânulos de enxofre elementar como fonte de enxofre. Constatou-se que o processo foi viável para a remoção de $25 \text{ mgNO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$, sendo fatores como concentração de oxigênio (menor que $0,3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), relação enxofre/biomassa como fatores essenciais para a manutenção do processo.

Durante o experimento não houve a necessidade de aplicar produtos químicos para a limpeza da membrana, visto que a taxa de $0,5 \text{ m}^3 \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{d})^{-1}$ não promoveu problemas operacionais.

Koenig *et al.* (2005) avaliaram a biomassa presente em um biofilme associado a partículas de enxofre e ao processo de desnitrificação. Identificaram-se duas espécies de autotróficos, três heterotróficos, e *Thiobacillus denitrificans* na proporção de 32% da biomassa. Para os autores é necessário reavaliar os mecanismos de desnitrificação e a relação entre os distintos microrganismos neste processo.

Alvarez *et al.* (2007) relataram a importância da desnitrificação autotrófica, que ao contrário da heterotrófica não tem um residual de material orgânico ao final do processo. Realizando ensaios em um reator contínuo com grânulos de enxofre elementar, obteve remoção de nitrato de aproximadamente 96%.

Moon *et al.* (2004) observaram que durante a desnitrificação autotrófica havia a formação de nitrito e seu acúmulo, porém este acúmulo é temporário não identificando residual de nitrito ao final do processo.

Mahmood *et al.* (2007) investigaram a remoção de sulfeto através da redução de nitrito, em meio sintético. A estequiometria da reação pode ser visualizada nas Equações 3.28 e 3.29. Operou-se um bioreator anaeróbio de oxidação de sulfeto durante 135 dias, tendo como objetivo avaliar a carga volumétrica, efeito do tempo de retenção hidráulico e concentração de substrato. A carga máxima de remoção de nitrito e de sulfeto foi de 13,82 e 16,311 $\text{Kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$, respectivamente, e TRH de 0,1 d. A concentração de sulfeto ficou em torno de 1900 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ tendo como eficiência de remoção de 89%. De acordo com os mesmos a remoção não atingiu patamares maiores devido a escassez de nitrito. A concentração de nitrito permaneceu em torno de 2200 $\text{mgNO}_2^- \cdot \text{L}^{-1}$. Os autores concluem que foi estabelecido o processo de remoção de nitrito e sulfeto, porém não foram identificados os microrganismos responsáveis pelo processo.



DEAMOX

O DEAMOX (Denitrifying Ammonium Oxidation) é um processo recente que consiste na desnitrificação autotrófica utilizando o sulfeto como doador de elétrons para formação de nitrito e posterior remoção de nitrogênio pelo processo anammox. Kalyuzhnyi *et al.* (2006) estudou o processo DEAMOX, na Figura 3.12 está representado o esquema proposto para o processo.

Supondo um efluente contendo determinada carga de sulfato e matéria orgânica, a etapa inicial consiste no tratamento anaeróbico deste efluente, formando amônio e sulfeto (Equação 3.30). Em seguida parte do efluente é conduzido para um reator nitrificante e outra parte para o reator DEAMOX, que também recebe o efluente do reator nitrificante. No reator DEAMOX o nitrato formado no reator nitrificante é reduzido a nitrito tendo o sulfeto como doador de elétrons, e o nitrito gerado é reduzido a nitrogênio gasoso através da oxidação do amônio, podendo ser visualizados nas Equações 3.31 a 3.33.

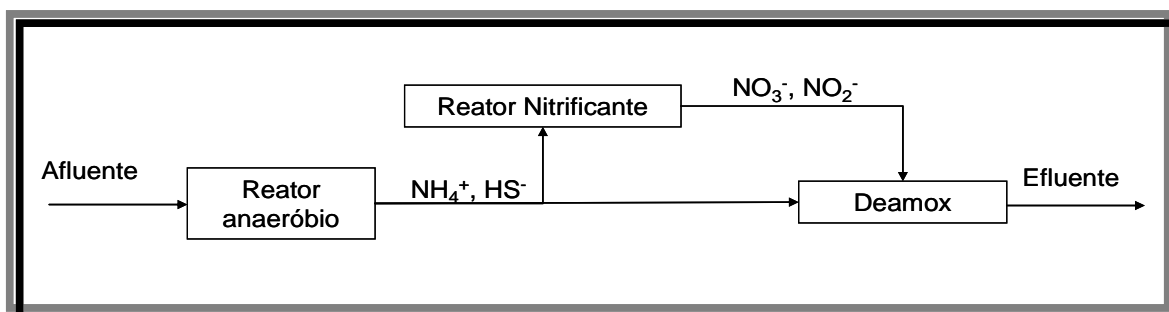
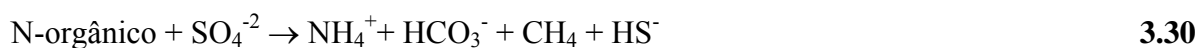


Figura 3.12: Processo DEAMOX



No referido estudo o pesquisador consegue estabelecer o processo no reator DEAMOX, e após um período de 410 dias de operação, otimizado, o reator apresentou uma eficiência de 90% de remoção de nitrogênio, para uma carga volumétrica de 1000 mg.(L.d)⁻¹. Define ainda que as relações N-NO_x/N-NH₄⁺ e S-H₂S/N-NO₃⁻ são essenciais para a manutenção do sistema.

Baseado nas discussões apresentadas anteriormente, para a realização deste processo seria necessário a atividade de uma diversidade de microrganismos, como as bactérias redutoras de sulfato (reator anaeróbico), nitrificantes (reator nitrificante), bactérias desnitrificantes autotróficas (anammox) e possivelmente *Thiobacillus denitrificans* (reator DEAMOX).

3.5 Medidas de potencial redox em sistemas de tratamento de efluentes

Potencial eletroquímico ou potencial redox (ORP) é a tendência de determinada substância adquirir elétrons ou ser reduzida. Para se obter os valores de potenciais, atribui-se um valor arbitrário a um eletrodo, que é tomado como referência, geralmente é o par $H^+(aq., 1M)/H_2$ (1 atm), que se denomina eletrodo de referência, para o qual atribui-se o valor = 0 Volt. O potencial é considerado positivo quando a reação que ocorre no eletrodo (em relação ao de referência) é a redução, e negativo quando é a oxidação. Ambientes com potencial redox elevado (+) são favoráveis à manutenção de microrganismos estritamente aeróbios, enquanto valores negativos do potencial favorecem o crescimento de microrganismos estritamente anaeróbios. Microrganismos facultativos possuem uma ampla faixa de potencial redox no qual é possível sua atividade metabólica, em condições de ORP + utilizam o oxigênio como aceptor de elétrons, e em ORP- usam aceptores de elétrons alternativos, como íons férrico, nitrato e sulfato. A Figura 3.13 representa alguns gêneros de microrganismos e suas respectivas faixas de ORP e pH (Atlas *et al.*, 2002).

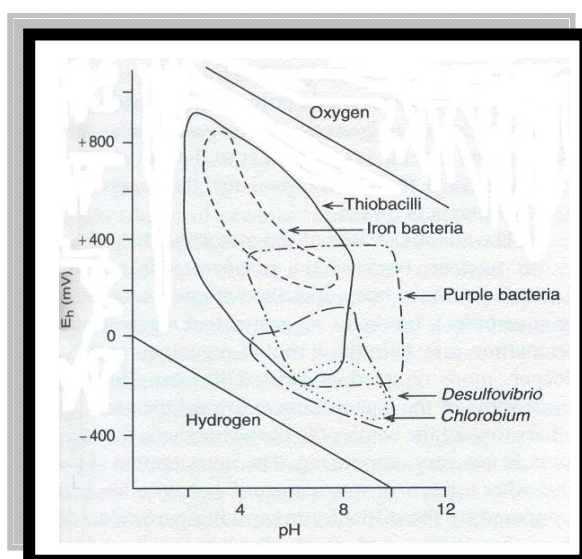


Figura 3.13: Tolerância de bactérias à mudanças de pH e potencial redox (Atlas *et al.*, 2002)

Atualmente, algumas pesquisas da área de tratamento biológico de efluentes têm se dedicado à introdução do potencial redox (E_H) como possível grandeza de controle do processo de remoção de poluentes. Polanco *et al.* (2001) estudaram a oxidação de amônio e redução de sulfato de um efluente industrial em condições de anaerobiose (ORP = -425 mV). Janssen *et al.* (1998) investigaram o processo de oxidação de sulfeto com a intenção de limitar o aceptor de elétrons para promover a formação de enxofre elementar e, com esta finalidade, utilizaram o ORP como controle. Definiu-se que a faixa de potencial ideal para a formação de enxofre elementar é da ordem de -147 a -137 mV (eletrodo de referencia H_2 , 30°C, pH 8). Peng *et al.* (2006) relatam que há uma boa correlação de ORP e concentração de amônio e nitrato no processo de remoção de nitrogênio A/O, destacam-se ainda que a máxima desnitrificação ocorre em condições de -90 mV. Li & Irvin (2007) comparando a utilização de ORP e alcalinidade como indicadores de controle em processo de desnitrificação e nitrificação, definem, baseado em seu estudo, que a alcalinidade apresentou resultados mais satisfatórios do que o potencial. Estas pesquisas mostram que é preciso otimizar o uso do potencial como parâmetro de controle de processo, definindo através de equações e modelos a variação das substâncias com a variação do ORP, permitindo assim uma melhor compreensão do fenômeno associado a medidas de potencial.

4-MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho experimental envolveu a operação de um reator contínuo, inoculado com uma cultura mista de microrganismos a fim de se estabelecer o processo de desnitrificação autotrófica, via integração do ciclo do nitrogênio e do enxofre. Utilizou-se o tiosulfato como fonte de enxofre (doador de elétrons) e o nitrato como fonte de nitrogênio (aceptor de elétrons). Após a adaptação da flora de microrganismos à condição de $500 \text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$ e $175 \text{ mgN-NO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$, este inóculo foi usado na realização de ensaios cinéticos em batelada, na qual definiram-se as melhores condições, concentração celular e relação enxofre/nitrogênio (S/N), para caracterizar os microrganismos quanto ao consumo de seus substratos, definindo-se assim os parâmetros cinéticos da cultura. Além disso, realizaram-se algumas cinéticas em reator CSTR (Continuous Stirred-Tank Reactor), com a finalidade de se obter medidas de potencial redox para avaliar a viabilidade de utilizar o potencial redox no controle do processo. Na Figura 4.1, observa-se o esquema geral dos experimentos.

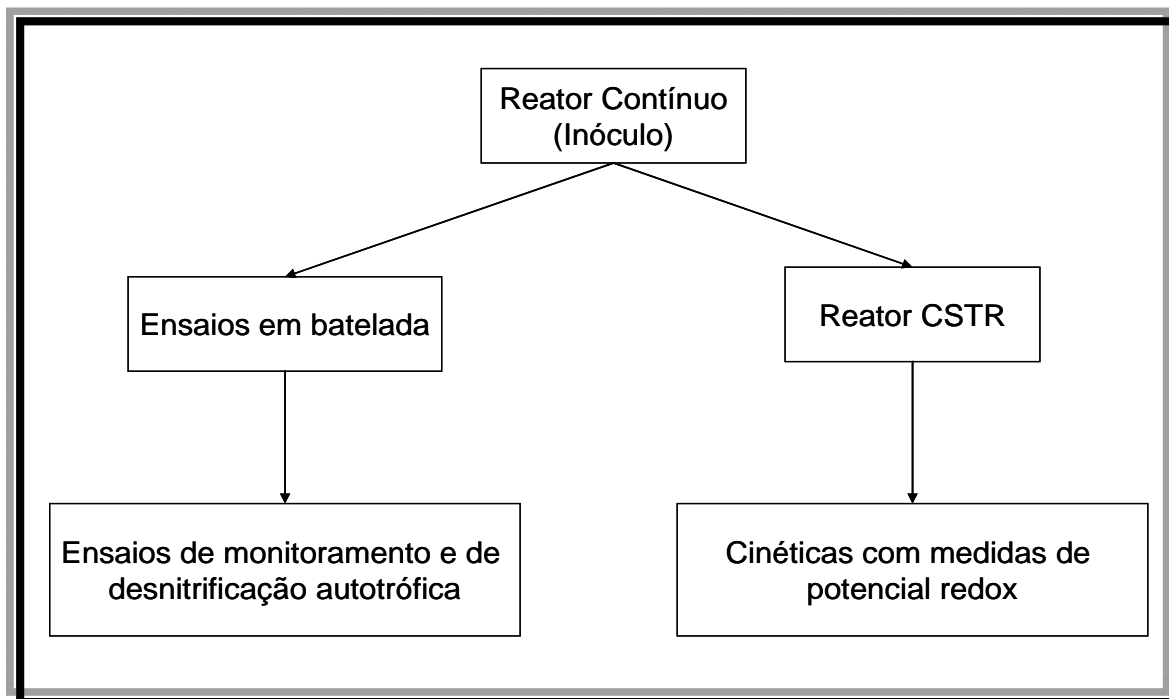


Figura 4.1: Experimentos cinéticos propostos neste trabalho

Maiores detalhes sobre os experimentos encontram-se descritos a seguir.

4.1 Sistema para enriquecimento e manutenção dos microrganismos em um reator contínuo

4.1.1 Inóculo

O inóculo utilizado para estabelecer o processo de remoção combinada de nitrogênio e enxofre foi coletado de duas fontes distintas. Realizou-se uma coleta de lodo na Estação de Tratamento de Esgoto, sistema de Lodos Ativados, da CASAN (Companhia Catarinense de Águas e Saneamento), localizada na cidade de Florianópolis – Santa Catarina. E uma segunda amostragem proveniente do sistema de tratamento anaeróbio da indústria de bebidas AMBEV (Companhias de Bebidas das Américas), situada no município de Lages – Santa Catarina.

Os referidos inóculos passaram por um tratamento preliminar, sendo o inóculo CASAN submetido a um sistema de peneiramento para remoção de partículas suspensas e o inóculo AMBEV, que pode ser visualizado na Figura 4.2, drenado para reduzir o teor de água do mesmo. Finalizada esta etapa, realizou-se a inoculação do reator contínuo, tendo como biomassa inicial 4g SSV.L^{-1} e uma proporção de 50% (m/m) de cada lodo.



Figura 4.2: Lodo coletado na AMBEV, após drenagem

4.1.2 Reator contínuo

A adaptação da cultura mista de microrganismos foi feita em um reator contínuo, com volume total de 20L, volume útil de 10L. O sistema era completamente vedado, evitando-se a introdução de oxigênio.

4.1.3 Meio de cultura

Operou-se o reator anaeróbio de forma a promover a adaptação da biomassa ao sistema de remoção de nitrogênio e oxidação de enxofre. Assim, o reator era alimentado diariamente com solução sintética contendo nitrato (N-NO_3^-), como fonte de nitrogênio, tiosulfato ($\text{S-S}_2\text{O}_3^{2-}$), como fonte de enxofre, bicarbonato (NaHCO_3^-), como fonte de carbono, além de solução de meio nutriente essencial para o metabolismo microbiano.

Os reagentes eram adicionados ao meio sintético a partir de duas soluções estoques, uma de enxofre ($10000 \text{ mg S-S}_2\text{O}_3^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$) e outra de N ($10000 \text{ mg N-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$). A partir de uma solução estoque de bicarbonato de sódio ($40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), era adicionada a fonte de carbono do meio, sendo utilizado 200 mL a cada 2L alimentado, dosagem esta suficiente para manter o pH em torno de 8,00.

Na Tabela 4.1, verifica-se o conteúdo da solução estoque de nutrientes.

Tabela 4.1: Solução de nutrientes do meio estoque

Composto	Concentração (g/L)
EDTA .2H ₂ O	55,35
FeSO ₄ .7H ₂ O	4,99
ZnSO ₄ .7H ₂ O	21,99
CaCl ₂ .2H ₂ O	7,34
MnCl ₂ .2H ₂ O	5,06
CuSO ₄ .5H ₂ O	1,57
(NH ₄) ₆ .MoO ₂₄ .4H ₂ O	1,10
CoCl ₂ .6H ₂ O	1,61
KH ₂ PO ₄	0,25

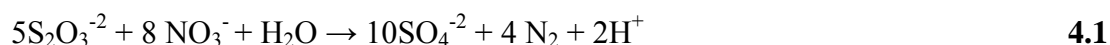
Fonte: Adaptado de Campos *et al.* (1998)

Desta solução estoque, retira-se o volume de 0,7 mL para cada litro de meio sintético alimentado.

4.1.4. Sistema de operação

O reator anaeróbio operou durante 211 dias, à temperatura ambiente, sendo alimentado com meio sintético. A operação do reator dividiu-se em três fases, sendo cada fase correspondendo a progressões de carga de enxofre. A progressão de carga aplicada tinha por finalidade permitir uma adaptação gradativa da biomassa. A composição de $\text{S-S}_2\text{O}_3^{2-}$ e N-NO_3^- variaram de acordo com a condição de operação aplicada ao reator, sendo mantida a

relação estequiométrica de S/N, de acordo com a Equação 4.1 (Santana, 2006). Analisando-se a estequiometria proposta na Equação 4.1, observa-se uma relação de 5 mols de $\text{S}_2\text{O}_3^{-2}$ para 8 mols de NO_3^- , o que implica em uma relação mássica S/N de 2,857. Dessa forma, mantendo-se esta relação para cada condição de operação do reator, pode-se observar na Tabela 4.2 a composição de S e N alimentada. O reator era operado com um tempo de retenção hidráulico adotado de 5 dias, conforme demonstrado na Equação 4.3. Dessa forma, eram retirados diariamente 2 L de efluente do reator, e alimentado com um mesmo volume de meio sintético.



$$TRH = \frac{V}{Q} \quad 4.2$$

Onde: TRH= tempo de retenção hidráulico

V = volume útil do reator (L)

Q = vazão de alimentação (L/d)

Assim:

$$TRH = \frac{10L}{2L/d} = 5d \quad 4.3$$

Tabela 4.2: Condições de operação do reator

Fase	Carga (mgS- $\text{S}_2\text{O}_3^{-2}$.(L.d) ⁻¹)	Concentração (mgS- $\text{S}_2\text{O}_3^{-2}$.L ⁻¹)	Concentração (mgN- NO_3^- .L ⁻¹)	TRH (d)
Fase I	20	100	35	5
Fase II	60	300	105	5
Fase III	100	500	175	5

A alimentação do reator era feita com meio sintético contendo as soluções descritas no item 4.1.3. A Tabela 4.3 apresenta um resumo dos volumes adicionados de cada reagente estoque descrito no item meio de cultura para um volume de alimentação de 2L por dia.

Tabela 4.3: Composição do meio sintético em cada fase de operação

Fase	Volume (mL) de solução Enxofre	Volume (mL) de solução nitrogênio	Volume (mL) de solução bicarbonato	Volume (mL) solução micronutrientes
Fase I	20	7	200	1,4
Fase II	60	21	200	1,4
Fase III	100	35	200	1,4

Após a obtenção de um regime pseudo-estacionário na fase III, condição de $500 \text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$ (ou $100 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{d})^{-1}$), utilizou-se o inóculo nos ensaios cinéticos de desnitrificação autotrófica, que tiveram como objetivo a obtenção de parâmetros cinéticos.

4.2. Ensaios cinéticos de desnitrificação autotrófica

Os ensaios cinéticos de desnitrificação autotrófica propiciaram o monitoramento do inóculo do reator em cada fase de operação e a pesquisa de remoção de nitrogênio e oxidação de enxofre. Apesar de objetivos diferentes, ambos os ensaios procederam-se com a mesma metodologia, sendo realizados em batelada. Estes experimentos permitiram a determinação das melhores condições de ensaios cinéticos bem como a determinação dos parâmetros da cultura. Os ensaios de desnitrificação autotrófica, com o intuito de se obter medidas de potencial redox, seguiram metodologia distinta, devido a questões operacionais, sendo realizadas em um CSTR.

4.2.1 Ensaios em batelada

Os ensaios em batelada foram realizados em frascos do tipo soro, contendo um volume de amostra de 150 mL. Para manter a amostra homogênea durante o experimento os frascos eram conduzidos a um “Shaker” modelo Tecnal TE-420, com agitação constante (110 rpm) e temperatura de $30^\circ\text{C} \pm 1$.

Definidos os ensaios a serem realizados, o inóculo era coletado retirando-se a biomassa do reator juntamente com o efluente diário (2L). Para permitir uma homogeneidade

do sistema inseria-se argônio (gás inerte) mantendo o efluente do reator (10L) em constante agitação durante a coleta do lodo.

Posteriormente analisava-se o teor de sólidos e prosseguia-se com a lavagem do lodo, isto é, propiciava a decantação do lodo, para em seguida extrair o sobrenadante. Este procedimento, realizado cinco vezes em seqüência, garantia a eliminação das substâncias contidas no efluente, contribuindo para eliminar possíveis interferências durante os experimentos com o inóculo.

Baseado na análise de sólidos e na concentração desejada para o ensaio preparava-se 2,5 L de meio sintético (seguindo a proporção descrita no item 4.1.4, pág. 46) para a realização da cinética, seja de monitoramento do reator ou de remoção de nitrogênio. O referido meio era submetido a 10 minutos de argônio para garantir a eliminação de oxigênio, que interfere no consumo de tiosulfato, oxidando-o. Finalizado o tempo de inserção de argônio eram transferidos 150 mL de amostra do meio sintético (2,5 L) para dezesseis frascos de soro. Para evitar a introdução de oxigênio de uma amostragem para outra era adicionado argônio, em cada frasco, até vedar o frasco. Para o fechamento do frasco utilizou-se fita isolante, além de uma camada de papel toalha.

Na seqüência, os frascos foram inseridos no “Shaker”, a uma temperatura de 30 ° C (+1°C). De acordo com a cinética em estudo, coletavam-se amostras de tempos em tempos, realizando-se as análises em questão. As cinéticas realizadas com esta metodologia foram:

- Monitoramento do inóculo em cada fase de operação do reator contínuo
- Cinéticas de desnitrificação: inicialmente para definir as melhores condições de ensaio, concentração celular e relação S/N; definidas a melhor concentração celular e a melhor relação S/N, realizou-se cinéticas em distintas concentrações de enxofre, estimando-se assim os parâmetros cinéticos

A seguir, na Figura 4.3, encontram-se o esquema dos experimentos conduzidos utilizando-se desta metodologia, bem como a condição de cada ensaio.

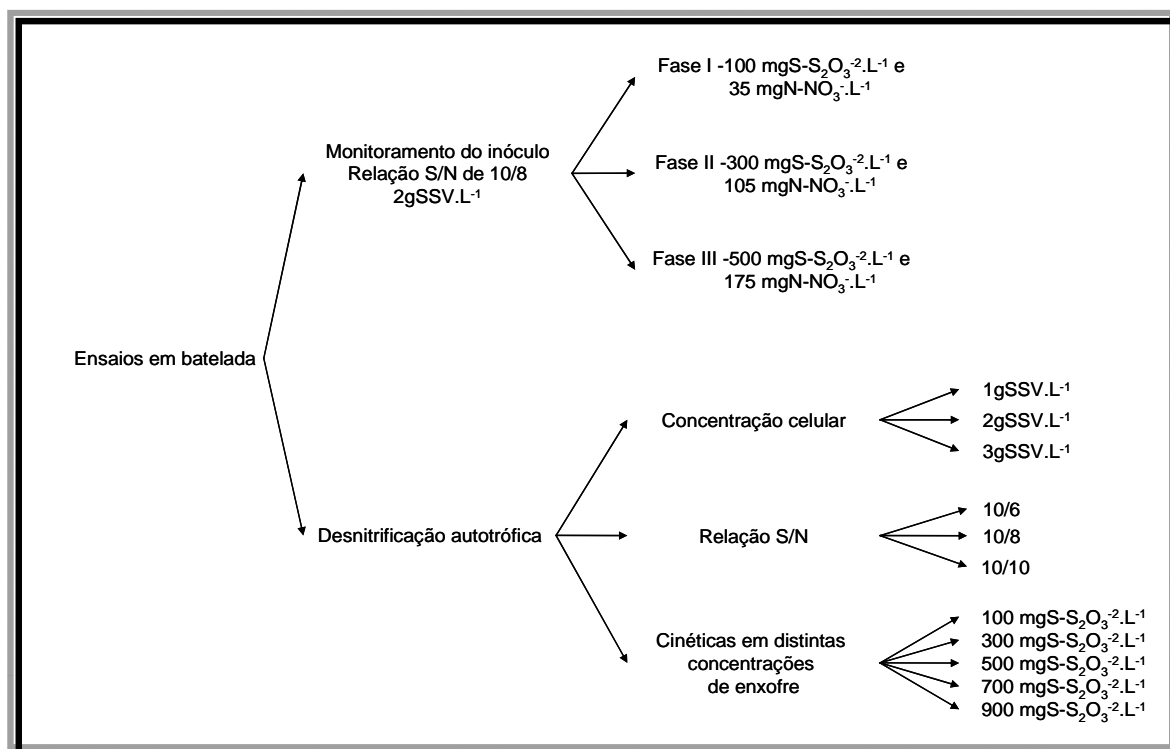


Figura 4.3: Matriz dos experimentos em batelada

Os ensaios de desnitrificação autotrófica seguiram a seqüência definidas na Figura 4.3, sendo realizadas primeiro as cinéticas de concentração celular (variação da relação substrato/concentração celular, S_0/X_0), em seguida, definida a melhor concentração celular, conduziram-se os experimentos de definição da melhor relação enxofre/nitrogênio (S/N). Uma vez obtidas essas informações, concentração celular e relação S/N ideais, procedeu-se os experimentos de variação da concentração de substrato (variação de S_0/X_0 , mantendo X constante).

Nos ensaios de desnitrificação autotrófica destinados à avaliação do efeito da concentração celular manteve-se fixo a concentração de tiosulfato em $500 \text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{2-}.\text{L}^{-1}$ e a relação S/N de 10/8, determinando-se assim as condições apresentadas na Tabela 4.4.

Tabela 4.4: Relação teórica S_0/X_0

Concentração celular (gSSV.L ⁻¹)	$S_{S_2O_3^{2-}}/X$ (mgS/gSSV)	$S_{NO_3^-}/X$ (mgN/gSSV)
1	500	175
2	250	87,5
3	167	58,3

As cinéticas, destinadas à determinação da melhor relação molar S/N, foram conduzidas mantendo-se a concentração de enxofre em $500 \text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$, variando-se a concentração de nitrato de acordo com a relação proposta, e fixando-se a concentração celular definida no ensaio anterior. Estas condições podem ser visualizadas na Tabela 4.5.

Tabela 4.5: Condições das cinéticas das relações molares S/N

Relação S/N	Condições da cinética		Sólidos ($\text{gSSV} \cdot \text{L}^{-1}$)
	Tiosulfato ($\text{mgS-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$)	Nitrato ($\text{mg N-NO}_3^{-} \cdot \text{L}^{-1}$)	
10/6	500	131	Definido no ensaio S_0/X_0 , fixado S_0
10/8	500	175	
10/10	500	219	

Assim, definidas a concentração celular e a relação S/N ideal, variou-se a concentração de enxofre (variação de S_0/X_0) mantendo-se fixas as condições determinadas anteriormente. As concentrações utilizadas nos experimentos foram de 100, 300, 500, 700, 900 $\text{mgS-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$.

4.2.2 Ensaio em reator CSTR

Os ensaios cinéticos de desnitrificação autotrófica realizados em um reator CSTR de 2L propiciaram a obtenção de medidas de potencial redox associadas ao processo de desnitrificação via enxofre. Nestes experimentos, realizados em sistema aberto e temperatura ambiente, mantinha-se agitação contínua utilizando-se um agitador Biomixer. Neste reator, introduziu-se o sensor de oxigênio e a sonda de potencial redox para efetuar as referidas medidas.

Definidos os ensaios de medidas de potencial redox, coletava-se o inóculo retirando-se a biomassa do reator juntamente com o efluente (2L). Para permitir uma homogeneidade do sistema, inseria-se argônio (gás inerte) mantendo o efluente do reator (10L) em constante agitação durante a coleta do lodo.

Posteriormente, analisava-se o teor de sólidos e prosseguia-se com a lavagem do lodo, isto é, propiciava-se a decantação do lodo, para, em seguida, extrair o sobrenadante. Este procedimento garantia a eliminação das substâncias contidas no efluente, contribuindo para eliminar possíveis interferências durante os experimentos com o inóculo.

Baseado na análise de sólidos e na concentração desejada para o ensaio preparava-se 2,0 L de meio sintético, contendo meio nutrientes e bicarbonato. Diferente das cinéticas realizadas no Shaker, o experimento foi mantido a temperatura ambiente, em condições anóxicas, sob leve agitação para evitar a introdução de oxigênio. As cinéticas realizadas no reator CSTR (becker de 4L, mantido sob agitação constante) seguiram as condições de monitoramento do inóculo, e podem ser visualizadas na Figura 4.4.

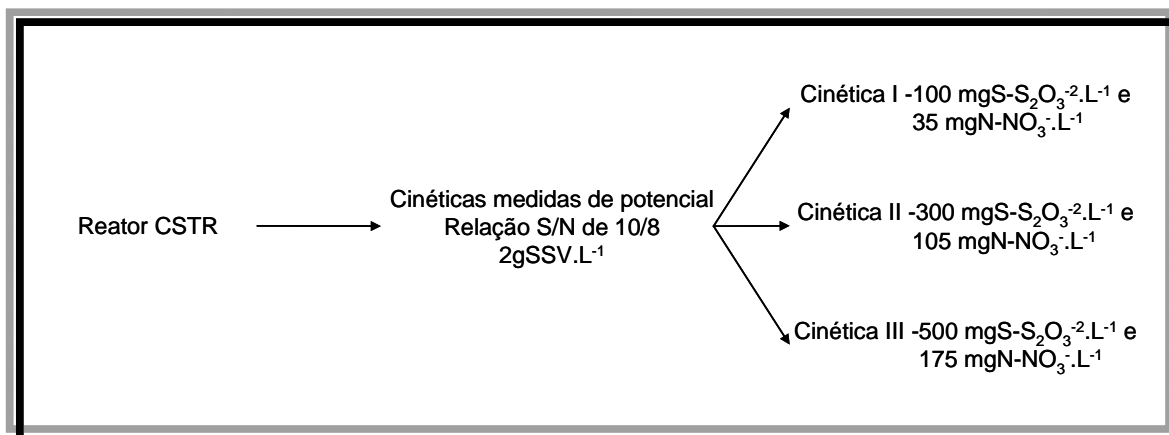


Figura 4.4: Cinéticas realizadas no reator CSTR

4.3. Métodos Analíticos

4.3.1. Determinação de nitrato

Método

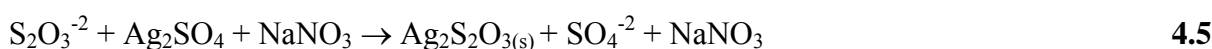
Na determinação de nitrato optou-se pelo método espectrofotométrico, conforme descrito por Cataldo *et al.* (1975), modificado para o estudo com a finalidade de eliminar a interferência do enxofre na amostra.

Material e Solução

Utilizou-se um espectrofotômetro marca Hach, modelo DR/2010; solução de ácido salicílico; solução de hidróxido de sódio; sulfato de prata Ag_2SO_4 ; ácido sulfâmico NH_2SO_3 .

Interferência

Antes de se iniciar o método, deve-se realizar um tratamento prévio da amostra adicionando-se primeiramente ácido sulfâmico, para eliminar a presença de nitrito (Equação 4.4) e em seguida sulfato de prata eliminando-se a interferência do enxofre (Equação 4.5). Este tratamento prévio é proposto por Soares & Hirata (2007). Filtra-se a amostra e aplica-se o método proposto por Cataldo *et al.* (1975).



Porém, o precipitado de cor branca $\text{Ag}_2\text{S}_2\text{O}_3(\text{s})$ é instável decompondo-se de acordo com a Equação 4.6.



Descrição do método

O método baseia-se na reação da amostra contendo nitrato, 0,2 mL, com 0,8 mL da solução ácida durante 20 min, posteriormente é adicionado 19 mL de solução de hidróxido de sódio 2N. A seguir, é feita a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 410 nm. A concentração de nitrato na amostra é determinada a partir de uma curva padrão. A curva padrão de nitrato é preparada a partir de amostras diluídas de NaNO_3 , previamente seco durante 2h a 105° C. A faixa de leitura do método é de 0 – 70 mgN- $\text{NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$.

4.3.2.Determinação de nitrito

Método

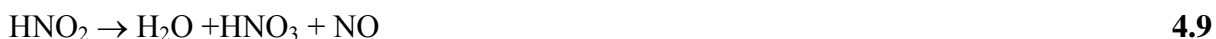
Na determinação de nitrito optou-se pelo método espectrofotométrico, conforme descrito por Vogel (1989).

Material e Solução

Utilizou-se um espectrofotômetro marca Hach, modelo DR/2010; e kit Hach NitriVer 2 contendo os reagentes.

Descrição do método

O método baseia-se na reação da amostra contendo nitrito, 10 mL, com um kit contendo os reagentes, durante 10 min. A adição do reagente à amostra contendo nitrito promove a redução do nitrito para óxido nítrico na presença de sulfeto ferroso, em meio ácido (Equações 4.8, 4.9 e 4.10). O óxido é convertido em um cromógeno pela reação com cádmio, formando um produto de coloração verde. Posteriormente realiza-se a leitura em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 585 nm. A concentração de nitrito na amostra é determinada a partir de uma curva padrão. A curva padrão de nitrito é preparada a partir de amostras diluídas de NaNO_2 previamente seco durante 2h a 105°C . A faixa do método é de $0 - 45 \text{ mgN-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$.



4.3.3. Determinação de amônio

Método

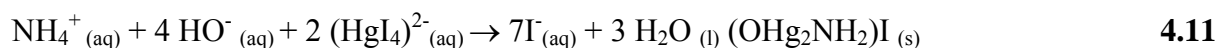
Na determinação de amônio, optou-se pelo método espectrofotométrico, conforme descrito em Vogel (1989).

Material e Solução

Utilizou-se um espectrofotômetro marca Hach, modelo DR/2010; solução de reagente Nessler.

Descrição do método

O método baseia-se na reação da amostra contendo amônio, 10 mL, com 0,2 mL da solução do reagente Nessler (iodeto de mercúrio e iodeto de potássio, dissolvidos em hidróxido de sódio) durante 10 min. A adição do reagente de nessler à amostra contendo amônio forma um produto ($\text{NH}_2\text{Hg}_2\text{I}_2$) de cor laranja (Equação 4.11). Posteriormente, realiza-se a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 425 nm. A concentração de amônio na amostra é determinada a partir de uma curva padrão. A curva padrão de amônia é preparada a partir de amostras diluídas de NH_4Cl previamente seco durante 2h a 105°C . A faixa do método é de $0 - 15 \text{ mgN-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$.



4.3.4 Determinação do tiosulfato

Método

Na determinação de tiosulfato optou-se pelo método titulométrico, iodometria, conforme descrito em APHA, (1995), adaptado. A adaptação consiste na adição do tiosulfato na amostra a ser titulada, dessa forma, gasta-se um volume menor de tiosulfato titulante.

Material e Solução

- Solução de tiosulfato padronizada
- Solução de dicromato de potássio
- Solução de iodeto de potássio saturada
- Solução de amido
- Ácido clorídrico concentrado

Descrição do método

A iodometria é uma técnica analítica baseada na redução do dicromato e na oxidação do iodeto, formando iodo. O iodo formado é titulado com solução de tiossulfato. A iodometria pode ser utilizada para determinação de sulfetos, tiossulfato e para a padronização de tiossulfato.

A padronização do tiossulfato é feita titulando-se o tiossulfato com o iodo formado da reação do dicromato com o iodeto. Da titulação, obtém-se o volume gasto de tiossulfato (V1) para reagir com o iodo, determinando-se assim a concentração real da solução de tiossulfato. Calcula-se o fator de correção da solução de tiossulfato dividindo-se a concentração real pela concentração teórica $\left(f_c = \frac{C_{real}}{C_{teórico}}\right)$.

A seguir, procede-se uma nova titulação, acrescentando um volume conhecido da amostra no erlenmeyer contendo dicromato e iodeto. Da titulação, obtém-se o volume consumido de tiossulfato padronizado para reagir com o iodo (V2). Neste caso, há duas possibilidades:

1. Se $V1 \leq V2 \Rightarrow$ a concentração de tiossulfato na amostra é maior do que a concentração de tiossulfato padronizado. Na prática essa situação se verifica pela viragem de cor ao adicionar amostra no erlenmeyer.
2. Se $V1 > V2 \Rightarrow$ a concentração de tiossulfato na amostra é menor do que a concentração de tiossulfato padronizado. Na prática, a solução a ser titulada mantém a coloração amarelada.

Caso ocorra a situação 1, se faz necessário diluir a amostra. A situação 2 é a desejada.

A diferença $V1 - V2$ corresponde ao volume gasto do tiossulfato titulante para reagir com o iodo.

Dessa forma, procede-se os cálculos para determinação da concentração de tiossulfato na amostra.

Reações:

As reações podem ser visualizadas pelas equações 4.12 e 4.13.

**Padronização da solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$**

A padronização da solução de tiosulfato seguiu a metodologia da iodometria, conforme descrito em APHA (1995).

Determinação da concentração de tiosulfato na amostra

Procede-se as etapas descritas anteriormente para padronização da solução de tiosulfato, com a diferença que se acrescenta ao erlenmeyer 10 mL da amostra.

Inicia-se uma nova titulação com tiosulfato verificando os pontos de viragem. Terminada a titulação, anota-se o volume de tiosulfato gasto e procede-se o cálculo da concentração de tiosulfato na amostra. A determinação da concentração de tiosulfato na amostra deve ser feita em triplicata.

Cálculos

Pela estequiometria:

$$3 \text{ mols } \text{Cr}_2\text{O}_7^{-2} = n^\circ \text{ mols } \text{I}_2 \quad (1)$$

$$2 \text{ mols } \text{I}_2 = n^\circ \text{ mols } \text{S}_2\text{O}_3^{-2}$$

Multiplicando-se (1) por dois, tem-se:

$$6 \text{ mols } \text{Cr}_2\text{O}_7^{-2} = 2 n^\circ \text{ mols } \text{I}_2 = n^\circ \text{ mols } \text{S}_2\text{O}_3^{-2} \quad \text{ou}$$

$$6 \text{ mols } \text{Cr}_2\text{O}_7^{-2} = n^\circ \text{ mols } \text{S}_2\text{O}_3^{-2}$$

Padronização da solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

$$6 \text{ mols } \text{Cr}_2\text{O}_7^{-2} = n^\circ \text{ mols } \text{S}_2\text{O}_3^{-2}$$

$$6 \cdot C_{\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}} \cdot V_{\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}} = C_{\text{S}_2\text{O}_3^{-2}} \cdot V_{\text{S}_2\text{O}_3^{-2}} \quad \text{onde } C_{\text{S}_2\text{O}_3^{-2}} \text{ é a única incógnita}$$

➤ Cálculo do fator de correção

$$f_c = \frac{C_{real}}{C_{teórico}} \quad 4.14$$

Determinação da concentração de tiosulfato na amostra

$6 \text{ mols Cr}_2\text{O}_7^{-2} = n^\circ \text{ mols S}_2\text{O}_3^{-2} \text{ titulante} + n^\circ \text{ mols S}_2\text{O}_3^{-2} \text{ (amostra)}$

$$6 * C_{\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}} * V_{\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}} = C_{\text{S}_2\text{O}_3^{-2}} * f_c * V_{\text{S}_2\text{O}_3^{-2}} + C_{\text{S}_2\text{O}_3^{-2}} * V_{\text{S}_2\text{O}_3^{-2}}$$

onde $C_{\text{S}_2\text{O}_3^{-2}}$ da amostra é a única incógnita

4.3.5. Determinação de sulfato

Método

Na determinação de sulfato, optou-se pelo método espectrofotométrico, turbidimetria, conforme descrito em APHA (1995).

Material e Solução

Utilizou-se um espectrofotômetro marca Hach, modelo DR/2010, e kit Hach Sulfaver contendo os reagentes.

Descrição do método

O método baseia-se na reação da amostra contendo sulfato, 25 mL com um kit contendo os reagentes, durante 5 min. A adição do reagente à amostra contendo sulfato forma um produto esbranquiçado (BaSO_4) que gera uma turbidez no sistema (Equação 4.15). Posteriormente, realiza-se a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 450 nm. A concentração de sulfato na amostra é determinada a partir de uma curva padrão. A

curva padrão de sulfato é preparada a partir de amostras diluídas de Na_2SO_4 previamente seco, durante 2h a 105°C . A faixa de leitura do método é de $0 - 30 \text{ mgS-SO}_4^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$.



4.3.6. Determinação de sulfeto

Método

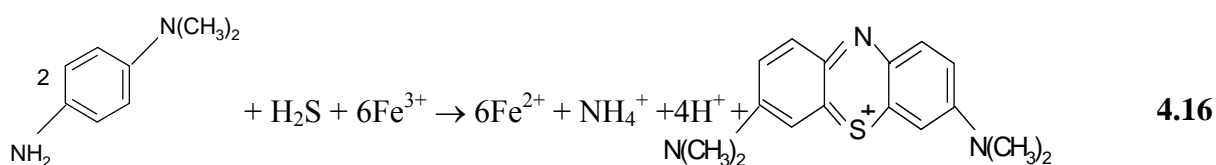
Na determinação de sulfeto optou-se pelo método espectrofotométrico, azul de metileno, conforme descrito em APHA (1995).

Material e Solução

Utilizou-se um espectrofotômetro marca Hach, modelo DR/2010; e kit Hach contendo os reagentes.

Descrição do método

O método baseia-se na reação da amostra contendo sulfeto, 25 mL com 1mL do kit contendo o reagente 1 e 1 mL do kit contendo o reagente 2 durante 5 min. A adição dos reagentes à amostra contendo sulfeto forma um produto de coloração azul (Equação 4.16). Posteriormente, realiza-se a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 665 nm. A concentração de sulfeto na amostra é determinada a partir de uma curva padrão. A curva padrão de sulfeto é preparada a partir de amostras diluídas de $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$. A faixa de leitura do método é de $0 - 1 \text{ mgS-S}^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$.



4.3.7. Determinação de enxofre total

Método

O método baseia-se na diretiva 89/519/CEE, adaptada para o presente estudo.

Material e solução

Para a aplicação desta metodologia são necessários os seguintes reagentes:

- Hidróxido de sódio (NaOH 30%)
- Ácido clorídrico (HCl 1:1)
- Peróxido de hidrogênio (H₂O₂ 30%)

Descrição do método

O método consiste na transformação em meio alcalino concentrado do enxofre elementar em polisulfuretos e tiosulfato, seguida da oxidação destes e de possíveis sulfitos presentes na amostra pelo peróxido de hidrogênio. As diferentes formas de enxofre são convertidas a sulfato, que é quantificado por metodologia específica.

Para digestão a quente da amostra, utiliza-se 25 mL desta, 20 mL de NaOH 30% e 20 mL de água. Após ferver, espera-se 25 minutos, retira-se a amostra do aquecimento deixando esfriar, após adiciona-se 8 mL de H₂O₂ 30% deixando em repouso durante 1 hora. Em seguida, procede-se novo aquecimento por 30 minutos, esfria-se a amostra e adiciona-se 30 mL de HCl 1:1. Na sequência é feita uma filtração da amostra, completando o volume da amostra para um volume conhecido. Posteriormente, realiza-se a quantificação de sulfato, determinando-se assim o enxofre total da amostra.

4.3.8. Determinação de sólidos

A determinação de sólidos seguiu o método descrito em APHA, (1995). Este método baseia-se na diferença de peso, após secagem da amostra na estufa (105°C), para

determinação de sólidos totais, e na diferença de peso, após secagem da amostra na mufla (550°C), para determinação de sólidos voláteis.

4.3.9. Determinação do pH

A determinação do pH fez-se através de um pHmetro marca Quimis, modelo Q400A.

4.3.10. Determinação de oxigênio

A determinação de oxigênio fez-se através de oxímetro WTW portátil, modelo OXI 340.

4.3.11. Determinação do potencial

A determinação do potencial fez-se através de uma sonda marca Digimed, utilizando-se de um analisador modelo TH-44.

4.4 Cálculos

As cinéticas propostas anteriormente foram desenvolvidas em triplicata e, em alguns casos, em duplicata. Comparavam-se os resultados obtidos e considerava-se a cinética com melhor coeficiente de correlação do ajuste concentração x tempo, caso as duas primeiras repetições apresentassem resultados próximos, elimina-se a necessidade de nova repetição.

Os dados das cinéticas realizadas em batelada e no reator CSTR, e da operação do reator contínuo estão disponíveis no anexo, pág.128.

4.4.1 Determinação das velocidades de consumo de substratos

Os ensaios cinéticos, em todas as condições anteriormente descritas, permitiram o cálculo das velocidades de consumo de substratos. Estas velocidades são calculadas a partir dos valores de inclinação das tangentes das respectivas curvas de concentração de substrato

(nitrato) e produto (sulfato) com o tempo. as velocidades (r_s) e velocidades específicas (μ_s), foram calculadas de acordo com as Equações 4.17 e 4.18 respectivamente:

$$r_s = \frac{dS}{dT} \quad 4.17$$

Sendo: r_s = velocidade de consumo de substrato ou velocidade de formação de produto, $\text{mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$

S= concentração, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

T= tempo, h

$$\mu_s = \frac{1}{x} * \frac{dS}{dT} \quad 4.18$$

Onde: μ_s = velocidade específica de consumo de substrato ou formação de produto,

$\text{mg} \cdot (\text{gSSV} \cdot \text{h})^{-1}$

x= concentração celular, $\text{mgSSV} \cdot \text{L}^{-1}$

S= concentração, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

T= tempo, h

Para a determinação das velocidades de consumo de substratos, descritas anteriormente, foram definidas as seguintes hipóteses: na fase exponencial de crescimento celular tem-se que μ é constante e que nesta fase, para os ensaios realizados nas concentrações desta pesquisa, pode-se considerar o crescimento das bactérias autotróficas pequeno,

podendo-se assumir X constante. Se $Y_{X/S}$ é constante, tem-se que $Y_{X/S} = cte = \frac{\mu}{\mu_s}$,

conseqüentemente μ_s deve ser constante. Para que μ seja constante é necessário que $\frac{dX}{dt}$ seja constante, isto é, crescimento linear com o tempo. Como decorrência disto, para que μ_s seja constante, é necessário que S varie linearmente com o tempo, como X é constante, necessita-

se que $\frac{dS}{dt}$ seja constante. Assim, as velocidades de consumo de substratos eram obtidas através da obtenção do coeficiente angular das retas.

4.4.2 Eficiência

Para avaliar a eficiência do processo de desnitrificação autotrófico ou de uma cinética, utilizou-se a Equação 4.19:

$$S_{removido}(\%) = \left(\frac{(S - ENTRADA) - (S - SAÍDA)}{(S - ENTRADA)} \right) * 100 \quad 4.19$$

4.4.3 Estimativa dos parâmetros cinéticos

Os parâmetros cinéticos foram determinados utilizando-se o programa Statistica 6.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Definição de metodologias analíticas

Umas das grandes dificuldades da área de tratamento de efluentes é a definição da metodologia analítica adequada para o tipo de efluente. Problemas como interferência de determinadas substâncias em análises de outros íons são comuns. Dessa forma, avaliaram-se as metodologias inerentes ao processo de desnitrificação via enxofre.

5.1.1 Nitrato

Na tentativa de se avaliar a metodologia analítica para nitrato, descrita por Cataldo *et al.* (1975), realizaram-se testes químicos com amostras contendo nitrato e formas de enxofre, e nitrato e nitrito.

Para avaliar a interferência das formas de enxofre na análise de nitrato, prepararam-se soluções contendo somente nitrato ($50 \text{ mgN-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$) e nitrato ($50 \text{ mgN-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$) com tiosulfato ($100 \text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$). Analisando-se os resultados (Tabela 5.1), percebe-se a interferência da forma de enxofre na análise de nitrato, subestimando o valor. Observando-se a Tabela 5.1, percebe-se que a concentração obtida pela metodologia descrita por Cataldo *et al.* (1975) não recupera integralmente o valor teórico de $50 \text{ mgN-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$. Para eliminar esta interferência, tentou-se acidificar (até um pH próximo a 5) a amostra ou basificá-la (até um pH próximo a 8), porém os resultados não foram satisfatórios, conforme verifica-se na Tabela 5.2.

Tabela 5.1: Resultado da análise da interferência do tiosulfato na quantificação de nitrato

Teste Nitrato e Tiosulfato	
Condição do teste: $100 \text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ e $50 \text{ mgN-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$	
Amostra	Concentração ($\text{mg N-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$)
Nitrato e Tiosulfato	5,87
Nitrato	44,12

Tabela 5.2: Resultado do teste de quantificação de nitrato, na presença de tiosulfato, com adição de ácido e hidróxido

Teste Nitrato e Tiosulfato	
Condição do teste: $100 \text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$ e $50 \text{ mgN-NO}_3^{-} \cdot \text{L}^{-1}$	
Amostra	Concentração N-NO_3^{-} ($\text{mg N-NO}_3^{-} \cdot \text{L}^{-1}$)
Nitrato e Tiosulfato	4,70
Nitrato e Tiosulfato (ácido, HCl)	2,99
Nitrato e Tiosulfato (básico, NaOH)	2,99

Na tentativa de se eliminar esta interferência, Vogel (1981) descreve a possibilidade de adicionar sulfato de prata, em excesso, promovendo a remoção de tiosulfato através da precipitação como tiosulfato de prata (Equação 4.7, pág. 53). No entanto, as análises mostraram que excesso de sulfato de prata superestima a concentração de nitrato, conforme apresentado na Tabela 5.3.

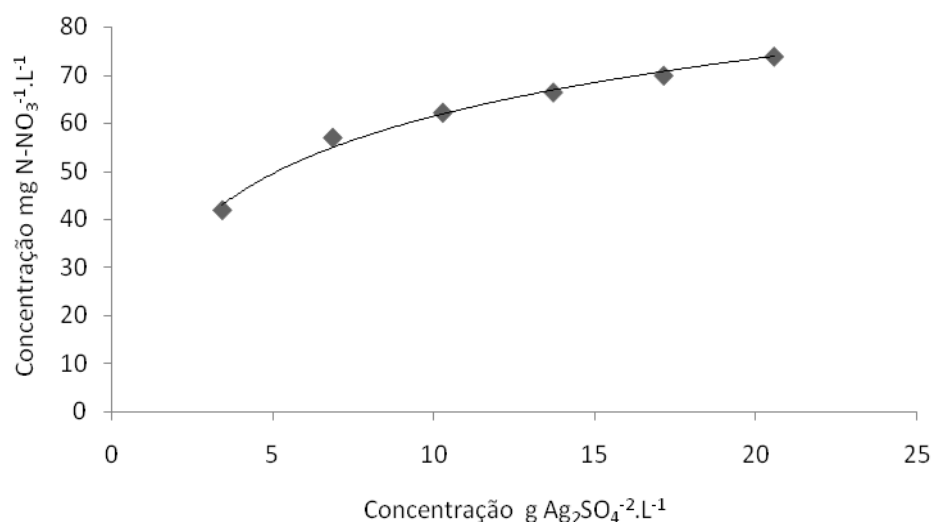
Tabela 5.3: Resultado do teste de quantificação de nitrato, na presença de tiosulfato, com adição de sulfato de prata em excesso

Teste Nitrato e Tiosulfato	
Condição do teste: $100 \text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$ e $50 \text{ mgN-NO}_3^{-} \cdot \text{L}^{-1}$	
Amostra	Concentração ($\text{mg N-NO}_3^{-} \cdot \text{L}^{-1}$)
Nitrato	47,71
Nitrato e Tiosulfato	34,66
Nitrato, Tiosulfato, Sulfato de prata _{exc}	56,53

Soares e Hirata (2007) descrevem que, para eliminar esta interferência, deve-se adicionar $3,43 \text{ g Ag}_2\text{SO}_4 \cdot \text{L}^{-1}$. Fez-se um experimento com a intenção de avaliar o efeito da concentração de sulfato de prata na concentração de nitrato, conforme observado na Tabela 5.4, a tendência está ilustrada na Figura 5.1.

Tabela 5.4: Efeito da concentração de sulfato de prata na quantificação de nitrato

Teste Nitrato e Tiossulfato	
Condição do teste: $100 \text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$ e $40 \text{ mgN-NO}_3^{-} \cdot \text{L}^{-1}$	
Amostra	Concentração ($\text{mg N-NO}_3^{-} \cdot \text{L}^{-1}$)
Nitrato e Tiossulfato	22,43
Nitrato, Tiossulfato e sulfato de prata ($3,43 \text{ g Ag}_2\text{SO}_4 \cdot \text{L}^{-1}$)	41,77
Nitrato, Tiossulfato e sulfato de prata ($6,86 \text{ g Ag}_2\text{SO}_4 \cdot \text{L}^{-1}$)	56,89
Nitrato, Tiossulfato e sulfato de prata ($10,28 \text{ g Ag}_2\text{SO}_4 \cdot \text{L}^{-1}$)	62,11
Nitrato, Tiossulfato e sulfato de prata ($13,71 \text{ g Ag}_2\text{SO}_4 \cdot \text{L}^{-1}$)	66,34
Nitrato, Tiossulfato e sulfato de prata ($17,14 \text{ g Ag}_2\text{SO}_4 \cdot \text{L}^{-1}$)	69,85
Nitrato, Tiossulfato e sulfato de prata ($20,57 \text{ g Ag}_2\text{SO}_4 \cdot \text{L}^{-1}$)	73,81

**Figura 5.1:** Relação entre a concentração de nitrato e a concentração de sulfato de prata

Observando-se os resultados da Tabela 5.4, percebe-se que a tendência é à medida que aumenta a concentração de sulfato de prata, há uma interferência significativa na amostra. Dessa forma, adotou-se o valor proposto de $3,43 \text{ g Ag}_2\text{SO}_4 \cdot \text{L}^{-1}$. Para ratificar este resultado realizou-se um novo ensaio, confirmando a viabilidade do teste, conforme apresentado na Tabela 5.5. A diferença entre a análise de nitrato sem interferentes e a de nitrato com adição de reagentes para eliminar os interferentes foi de 2,36, o que corresponde a uma variação de aproximadamente 5%, considerado satisfatório.

Tabela 5.5: Resultado do teste de quantificação de nitrato, na presença de tiosulfato, com adição de sulfato de prata

Teste Nitrato e Tiosulfato	
Condição do teste: 100 mgS-S ₂ O ₃ ⁻² .L ⁻¹ e 50 mgN-NO ₃ ⁻ .L ⁻¹	
Amostra	Concentração (mg N-NO ₃ ⁻ .L ⁻¹)
Nitrato	45,91
Nitrato e Tiosulfato	30,08
Nitrato, Tiosulfato, Sulfato de prata	48,27

O mesmo tipo de ensaio foi feito com nitrato e sulfeto e, da mesma forma, a adição de sulfato de prata (3,43 g Ag₂SO₄.L⁻¹) foi capaz de eliminar a interferência, mostrando resultados coerentes, apresentados na Tabela 5.6. O erro da análise mais uma vez menor que 5%.

Tabela 5.6: Resultado do teste de quantificação de nitrato, na presença de sulfeto, com adição de sulfato de prata

Teste Nitrato e Sulfeto	
Condição do teste: 100 mgS-Na ₂ S.9H ₂ O.L ⁻¹ e 50 mgN-NO ₃ ⁻ .L ⁻¹	
Amostra	Concentração (mg N-NO ₃ ⁻ .L ⁻¹)
Nitrato	51,04
Nitrato e Sulfeto	35,38
Nitrato, Sulfeto, Sulfato de prata	49,96

Para avaliar a interferência do nitrito na análise de nitrato, prepararam-se soluções contendo nitrato (50 mgN-NO₃⁻.L⁻¹) e nitrato (50 mgN-NO₃⁻.L⁻¹) com nitrito (20 mgN-NO₂⁻.L⁻¹). Analisando-se os resultados da Tabela 5.7, percebe-se a interferência do nitrito na análise de nitrato, subestimando esta. Para eliminar esta interferência adicionou-se ácido sulfâmico, de acordo com Soares e Hirata, 2007. Para os mesmos autores deve-se acrescentar 2,52 gNH₂SO₃H.L⁻¹ (ácido sulfâmico) para eliminar o nitrito na forma de nitrogênio gasoso, conforme a Equação 4.4 (pág.54).

Tabela 5.7: Resultado da análise da interferência de nitrito na quantificação de nitrato

Teste Nitrato e Nitrito	
Condição do teste: 50 mgN-NO ₃ ⁻ .L ⁻¹ e 20 mgN-NO ₂ ⁻ .L ⁻¹	
Amostra	Concentração (mg N-NO ₃ ⁻ .L ⁻¹)
Nitrato	39,68
Nitrato e nitrito	27,15

Dessa maneira, para se aplicar a metodologia descrita por Cataldo *et al.* (1975), que está amplamente difundida na literatura, é necessário um preparo da amostra, sendo adicionados 3,43 g Ag₂SO₄.L⁻¹ e 2,52 gNH₂SO₃H.L⁻¹. Após as reações, segue-se uma filtração para remoção dos precipitados, seguindo-se com a metodologia descrita na literatura. Para ratificar este resultado realizou-se um novo ensaio com tiosulfato, apresentado na Tabela 5.8 e com sulfeto, apresentado na Tabela 5.9, confirmando a viabilidade do teste, apresentando um erro menor que 1% em ambos os testes. Assim estabeleceu-se a metodologia completa da análise de nitrato que está descrita no item 4.3.1, pág. 52.

Tabela 5.8: Resultado da quantificação de nitrato, com adição de reagentes, na presença de tiosulfato e de nitrito

Teste Nitrato, Tiosulfato, Nitrito, Ácido Sulfâmico (2,52 g.L ⁻¹), Sulfato de prata (3,43g.L ⁻¹)	
Condição do teste: 100 mgS-S ₂ O ₃ ⁻² .L ⁻¹ e 40 mgN-NO ₃ ⁻ .L ⁻¹ e 20 mgN-NO ₂ ⁻ .L ⁻¹	
Amostra	Concentração (mg N-NO ₃ ⁻ .L ⁻¹)
Nitrato, tiosulfato, nitrito	12,98
Nitrato, tiosulfato, nitrito e ac. Sulfâmico	35,74
Nitrato, tiosulfato, nitrito, ac. Sulfâmico e sulfato de prata	39,97

Tabela 5.9: Resultado da quantificação de nitrato, com adição de reagentes, na presença de sulfeto e de nitrito

Teste Nitrato, Sulfeto, Nitrito, Ácido Sulfâmico (2,52 g.L ⁻¹), Sulfato de prata (3,43g.L ⁻¹)	
Condição do teste: 100 mgS-S ₂ O ₃ ⁻² .L ⁻¹ e 40 mgN-NO ₃ ⁻ .L ⁻¹ e 20 mgN-NO ₂ ⁻ .L ⁻¹	
Amostra	Concentração (mg N-NO ₃ ⁻ .L ⁻¹)
Nitrato, sulfeto, nitrito	27,19
Nitrato, sulfeto, nitrito e ac. Sulfâmico	37,81
Nitrato, sulfeto, nitrito, ac. Sulfâmico e sulfato de prata	39,61

5.1.2 Nitrito

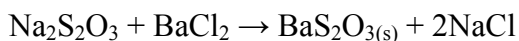
Na tentativa de avaliar a metodologia analítica para nitrito, descrita por Vogel (1989), realizaram-se testes químicos com amostras contendo nitrito e formas de enxofre. Avaliando-se o efeito do tiosulfato na análise de nitrito, apresentado na Tabela 5.10, percebe-se que este também é interferente nesta análise, subestimando a concentração de nitrito. Tentou-se eliminar esta interferência adicionando-se sulfato de prata na amostra. No entanto, ao contrário da metodologia de nitrato, o resultado não foi satisfatório, pois o sulfato superestimou a concentração de nitrito. Outra opção, acidificar a amostra também se mostrou ineficaz.

Tabela 5.10: Resultado da quantificação de nitrito, com adição de reagentes, na presença de tiosulfato

Teste Nitrito e Tiosulfato	
Condição do teste: 100 mgS-S ₂ O ₃ ⁻² .L ⁻¹ e 25 mgN-NO ₂ ⁻ .L ⁻¹	
Amostra	Concentração (mg N-NO ₂ ⁻ .L ⁻¹)
Nitrito	24,43
Nitrito e Tiosulfato	9,49
Nitrito, Tiosulfato, Sulfato de prata	46,68
Nitrito, Tiosulfato, HCl	12,50

Uma possível causa da interferência do tiosulfato na análise de nitrito seria a reação entre os compostos de enxofre com o íon ferro, formando complexos e, baseado no item 4.3.1, observa-se que a análise de nitrito baseia na formação de um complexo de óxido nitroso com ferro para, em seguida, reagir com cádmio, permitindo a leitura em espectrofotômetro.

Segundo Vogel (1981), em presença de cloreto de bário, o tiosulfato forma um precipitado branco, de acordo com a Equação 5.1, e não ocorre reação entre o cloreto de bário e o nitrito. Assim, fez-se um experimento adicionando-se cloreto de bário na amostra contendo tiosulfato e nitrito, e em seguida, procedeu-se a análise de nitrito. Porém, não foi possível quantificar o nitrito, pois houve a formação de precipitado branco, além de turbidez na amostra, quando se adicionou o kit de análise de nitrito. Supondo que esta nova interferência tenha sido decorrente do uso de substância halogenada (cloreto), tentou-se acrescentar outra fonte de bário, acetato de bário, mas também ocorreu a interferência, conforme se observa na Tabela 5.11.



5.1

Tabela 5.11: Resultado da quantificação de nitrito, com adição de sais de bário, na presença de tiosulfato

Teste Nitrito e Tiosulfato	
Condição do teste: 100 mgS-S ₂ O ₃ ⁻² .L ⁻¹ e 25 mgN-NO ₂ ⁻ .L ⁻¹	
Amostra	Concentração N-NO ₂ ⁻ (mg N-NO ₂ ⁻ .L ⁻¹)
Nitrito	24,43
Nitrito e Tiosulfato	11,72
Nitrito, Tiosulfato, Cloreto de bário	Precipitado branco
Nitrito, Tiosulfato, Acetato de bário	Precipitado branco

Não foram obtidos resultados satisfatórios com testes realizados nitrito e sulfeto, na qual, através da adição de ácidos, tentou-se eliminar a interferência de sulfeto na amostra, através da volatilização do sulfeto. A formação de precipitado de cor escura, após a adição do kit nitrito, interferiu na análise, conforme visualizado na Tabela 5.12.

Tabela 5.12: Resultado da quantificação de nitrito, com adição de reagentes, na presença de sulfeto

Teste Nitrito e Sulfeto	
Condição do teste: 100 mgS-Na ₂ S.9H ₂ O.L ⁻¹ e 25 mgN-NO ₂ ⁻ .L ⁻¹	
Amostra	Concentração (mg N-NO ₂ ⁻ .L ⁻¹)
Nitrito	23,02
Nitrito e Sulfeto	cor escura
Nitrito, sulfeto e HCl	precipitado
Nitrito, sulfeto, H ₂ SO ₄	precipitado

5.1.3 Tiosulfato

O método da iodometria é muito utilizado para análise de substâncias como sulfeto e sulfeto. Para este estudo adaptou-se a metodologia descrita em APHA 1995.

Baseado no fato que, durante a titulação iodométrica, o tiosulfato padrão é utilizado como titulante, realizou-se o seguinte experimento: fez-se uma primeira titulação contendo

apenas o tiossulfato titulante, e uma segunda adicionando-se um volume conhecido de amostra de tiossulfato, variando-se a concentração de tiossulfato da amostra, conforme apresentado na Tabela 5.13. Entende-se por concentração teórica corrigida, a concentração do tiossulfato preparado para o ensaio após a padronização, corrigindo assim a concentração da solução. O teste mostrou que, a medida que a concentração da amostra se aproxima da concentração do tiossulfato titulante (aproximadamente 500 mg.L^{-1}) o erro da análise reduz para a faixa de 5%.

Tabela 5.13: Quantificação de tiossulfato, em várias concentrações, através da titulação

Concentração teórica	Concentração teórica corrigida	Concentração experimental	Erro da análise
25	24,2	17,498	27,6
50	48,4	42,473	12,2
100	96,8	89,927	7,1
200	193,6	179,838	7,1
300	290,4	269,749	7,1
400	387,2	372,148	3,9
500	484,0	464,557	4,0

Através de ensaios cinéticos preliminares observou-se que não era possível quantificar o tiossulfato após a mistura da solução contendo tiossulfato, o lodo e formas de nitrogênio. Assim optou-se por trabalhar com concentrações próximas de tiossulfato titulante e da amostra, apenas para a análise de entrada, devido a interferência do meio nas análises durante a cinética.

A metodologia completa, contendo reagentes e soluções, pode ser visualizada no item 4.3.4, pág. 55.

5.1.4 Enxofre total

Na tentativa de promover o balanço de massa de enxofre na desnitrificação autotrófica, via enxofre, adaptou-se uma metodologia para determinação de enxofre total, descrita no item 4.3.7, pág. 60. A metodologia original destinada à aplicação de adubo foi testada para uma suspensão de lodo.

Para verificar a viabilidade de aplicação desta metodologia realizou-se uma cinética tendo $92,69 \text{ mgS}^{-2}.\text{L}^{-1}$ afluente. Após 10 horas de cinética, coletou-se uma amostra, quantificando-se o enxofre na forma de sulfeto e o enxofre total (este através da quantificação

de sulfato conforme descrito no item 4.3.5, pág.58). Estas análises foram realizadas para uma suspensão (contendo lodo mais amostras) e para uma amostra filtrada e para o lodo retido no filtro, constituindo-se assim três amostras (Figura 5.2).

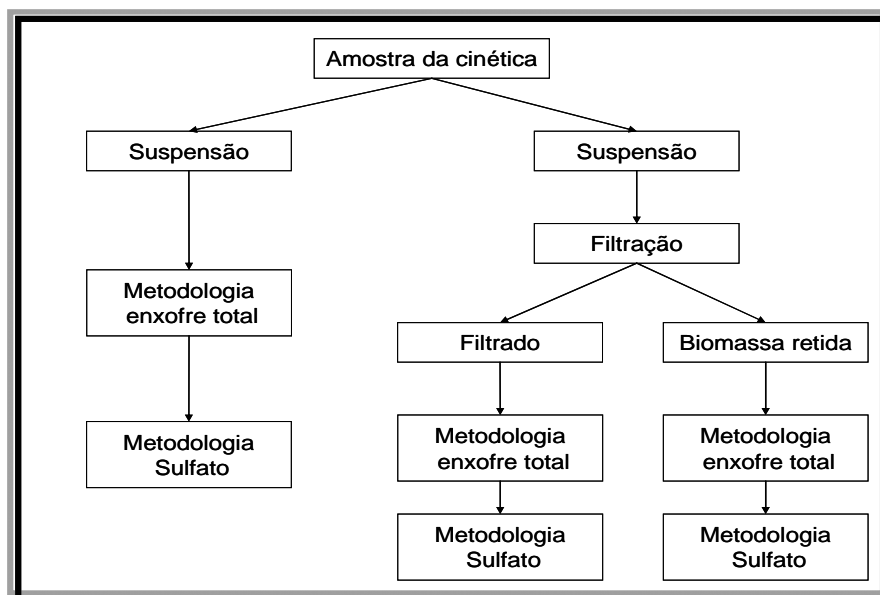


Figura 5.2: Amostragem para análise de enxofre total

É importante salientar que na amostragem da cinética, após 10 h não havia mais a presença de sulfeto, evidenciando assim que o enxofre de entrada estaria em outra forma. Analisando-se os resultados do teste, Tabela 5.14, percebe-se que na suspensão praticamente todo o enxofre afluyente foi quantificado pela metodologia adaptada, e na amostra submetida à filtração houve uma maior recuperação do enxofre na fração filtrada do que a retida no lodo. Entretanto, não foi possível fechar o balanço de massa. Isto ocorreu possivelmente devido à dificuldade de se retirar todo o lodo retido na membrana filtrante e possíveis perdas durante a análise. Neste caso, poder-se-ia adotar uma estratégia similar à análise de sólidos (por diferença, para esta metodologia diferença entre a suspensão e o filtrado) para se quantificar o teor de enxofre na biomassa. A metodologia testada mostrou uma variação em relação à entrada de S de 2%, mostrando assim ser viável a sua aplicação.

Tabela 5.14: Resultado do teste de oxidação de enxofre total

Teste Oxidação de enxofre total		
Amostra de uma cinética com sulfeto		
Amostra	mg S-SO ₄ ⁻² .L ⁻¹	S-Total (mg.L ⁻¹)
Suspensão	90,82	90,82
Filtrado	68,08	76,40
Lodo (amostra concentrada)	8,32	

5.1.5 Sulfato

Como a análise de sulfato é um procedimento turbidimétrico, APHA (1995), está mais suscetível à atuação de interferentes. Assim, realizou-se um ensaio de curva de adição padrão, para verificar a possibilidade de interferentes na quantificação de sulfato, no reator anaeróbio e durante as cinéticas. O objetivo de se utilizar a adição padrão é minimizar a ação de interferentes contidos na amostra, pois o efeito de interferentes é praticamente o mesmo nas análises da amostra e amostra mais padrões.

Procedeu-se o preparo de uma curva de sulfato. Partindo-se de uma solução de concentração conhecida 1000 mgS-SO₄⁻².L⁻¹, tomou-se os volumes desta solução, apresentados na Tabela 5.15.

Tabela 5.15: Volume adicionado da solução padrão para preparo da curva de adição padrão

Sol. Padrão (mL)	Concentração em 100 mL (mgS-SO ₄ ⁻² .L ⁻¹)
0	Branco
0,1	1
0,2	2
0,3	3
0,4	4
0,5	5
0,6	6
0,8	8
1,0	10
1,2	12
1,5	15

A cada balão de 100 mL da curva acrescentou-se 1 mL da amostra contendo sulfato (esta amostra foi coletada do reator anaeróbio que já estava operando). Em seguida, procedeu-se à leitura da curva, obtendo-se o seguinte ajuste, Figura 5.3.

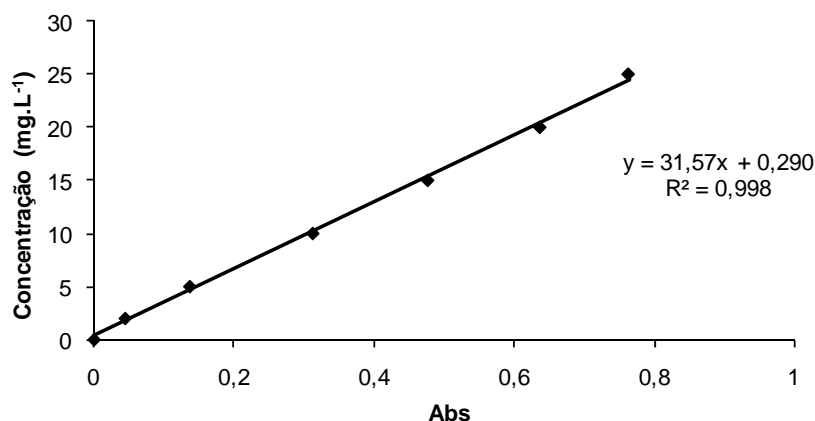


Figura 5.3: Curva de adição padrão de sulfato

A seguir, na Figura 5.4, visualiza-se a curva analítica sem adição padrão.

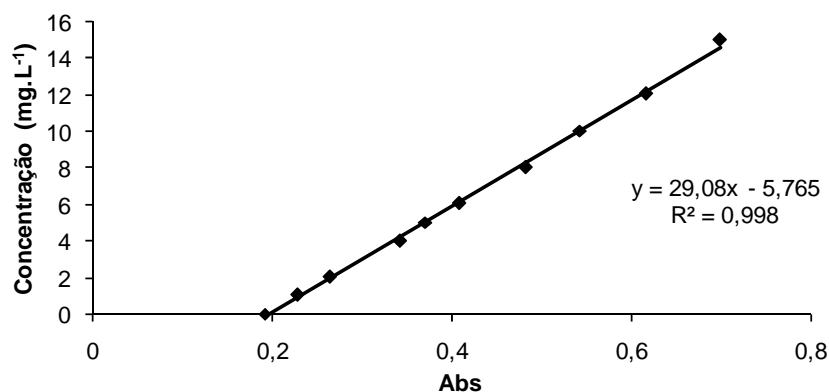


Figura 5.4: Curva sem adição padrão de sulfato

Na Tabela 5.16, observam-se os resultados obtidos para uma mesma amostra do reator anaeróbio. Comparando-se este resultado, com o apresentado pela curva sem adição de padrão (Figura 5.4), observa-se que não houve variação significativa entre as concentrações (diferença de 1,5%).

Tabela 5.16: Comparação da concentração de S-SO_4^{-2} determinadas pelas duas curvas distintas

Curva	Concentração ($\text{mgS-SO}_4^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$)
Sem adição padrão	584
Adição padrão	576

Na Tabela 5.17, observa-se um resumo dos testes com metodologias analíticas, assim como a possibilidade de utilização das análises nas cinéticas de desnitrificação autotrófica, via integração dos ciclos do enxofre e nitrogênio. Analisando-a percebe-se que seria possível realizar estudos de desnitrificação autotrófica utilizando nitrato e, como fonte de enxofre, o sulfeto; considerado um processo mais interessante devido à conversão do enxofre a enxofre elementar. No entanto, ao se realizar testes cinéticos biológicos preliminares, constatou-se a formação de uma coloração verde intensa, em decorrência de uma reação sulfeto-microrganismos, o que promoveu uma nova interferência nas metodologias analíticas, inviabilizando a utilização das metodologias de nitrato e sulfato, impedindo a realização do estudo visando a formação de enxofre elementar. Na tentativa de se eliminar esta interferência, fez-se um teste com amostras proveniente de uma cinética de desnitrificação autotrófica utilizando-se sulfeto de sódio, procedeu-se a determinação da concentração das amostras em cromatografia iônica. No entanto, os resultados não foram satisfatórios, sendo necessário um estudo mais detalhado para eliminar a interferência. Assim, a pesquisa concentrou-se na desnitrificação autotrófica via oxidação do tiosulfato a sulfato. Neste estudo ter-se-iam disponíveis as metodologias de nitrato, sulfato, tiosulfato (afluente), não sendo necessária a aplicação da metodologia de enxofre total, devido à conversão a sulfato.

Tabela 5.17: Resumo dos testes com metodologias analíticas

Metodologia	Referência	Cinética desnitrificação (nitrato via sulfeto)	Cinética desnitrificação (nitrato via tiosulfato)	Observação
Nitrato	Cataldo 1975	Aplicável	Aplicável	Adição de sulfato de prata e ácido sulfâmico para eliminar os interferentes
Nitrito	Vogel 1989	Não é possível aplicar devido a interferentes	Não é possível aplicar devido a interferentes	
Tiosulfato	APHA 1995	Dispensável	Aplicável	Somente em soluções aquosas
Sulfeto	APHA 1995	Aplicável	Aplicável	
Sulfato	APHA 1995	Aplicável	Aplicável	
Enxofre elementar	Adaptada da diretriz 89/519/CEE / cinéticas	Aplicável	Dispensável	

5.2 Operação do reator contínuo

5.2.1 Ensaios preliminares de oxidação química (abiótica)

Antes de se iniciar o estudo biológico, foram realizados ensaios preliminares com tiosulfato, verificando-se a possibilidade de oxidação química aeróbia e anaeróbia do mesmo, mesmo sem adição de microrganismos ao meio.

Para avaliar a ocorrência de oxidação química aeróbia, manteve-se 2L de solução contendo tiosulfato ($100 \text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$) sob aeração contínua, por um período de aproximadamente 24h. Não foi constatado o consumo de tiosulfato e nem a formação de sulfato, como pode ser constatado na Figura 5.5.

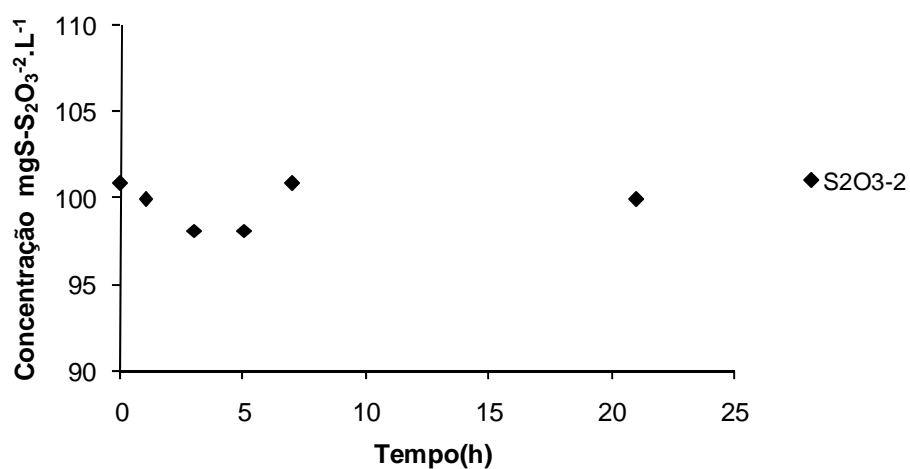


Figura 5.5: Cinética química aeróbia (abiótica)

Para avaliar se era viável a oxidação química anaeróbia seguiu-se o procedimento descrito no item 4.2.1, pág.48, com a diferença que não foi adicionado microrganismo ao experimento. Da mesma forma que na oxidação aeróbia, não houve consumo de tiosulfato e nem a formação de sulfato, conforme se constata na Figura 5.6.

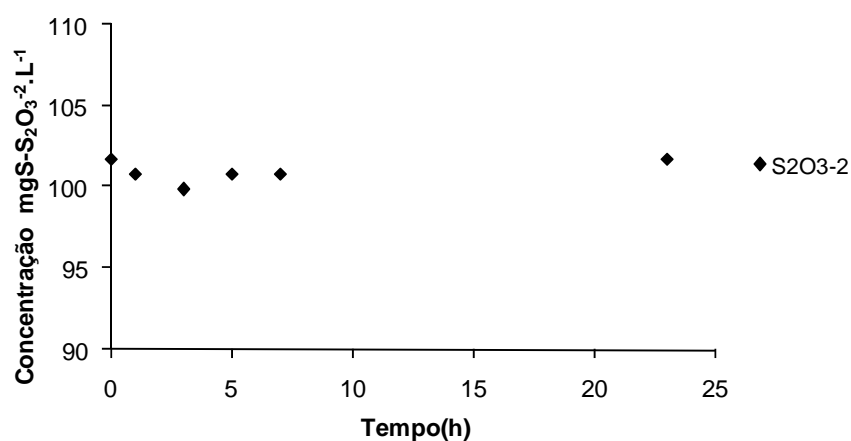


Figura 5.6: Cinética química anaeróbia (abiótica)

Estes resultados mostram que, para ocorrer a oxidação de tiosulfato a sulfato, é necessário um catalisador, seja ele químico ou biológico, não ocorrendo nenhuma transformação abiótica nas condições dos ensaios.

5.2.2 Reator contínuo

Baseado nos testes preliminares que comprovaram a necessidade de um catalisador para promover a oxidação do tiosulfato a sulfato, e de que seria necessário obter uma flora de microrganismo apta ao processo, iniciou-se a operação de um reator anaeróbio.

O reator contínuo foi operado durante aproximadamente 210 dias, suprindo-se a biomassa do sistema com nitrato, tiosulfato, bicarbonato e meio nutrientes conforme descrito em 4.1.3, pág.46. Eram feitas medidas no reator para verificar a ausência de oxigênio, o que era garantido pela inserção de argônio ao reator, visando assim garantir as melhores condições para o microrganismo se desenvolver e manter-se ativo.

O monitoramento do reator permite estabelecer qual o período ideal para a realização das cinéticas, propiciando assim ensaios em condições fisiológicas similares a dos microrganismos e em plena atividade. Na Figura 5.7, pode-se visualizar o monitoramento do reator, como as fases do processo, a concentração de sulfato formado, o residual de nitrato e a formação de amônio.

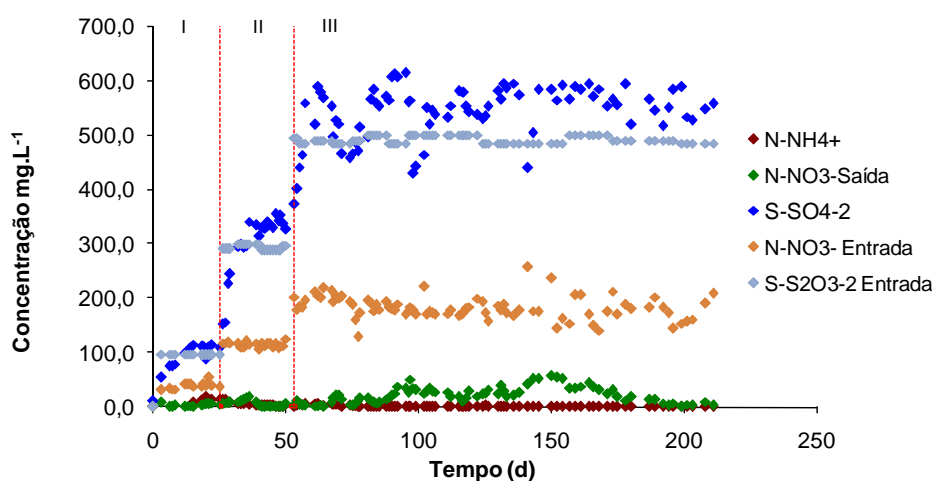


Figura 5.7: Monitoramento das concentrações dos íons durante a operação do reator contínuo

A operação do reator foi caracterizada por três fases distintas, identificando as etapas de progressão de carga, conforme descrito na Tabela 4.2 (pág. 49), do item Material e Métodos. Observa-se que as fases I e II foram mais curtas em decorrência do objetivo do estudo. Planejou-se atingir a concentração de $500 \text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$ para iniciar os ensaios cinéticos, garantindo-se assim uma atividade maior dos microrganismos e aproximando-se a concentração de enxofre a efluentes industriais.

Outro fator importante é a elevada conversão de substrato, permitindo assim o rápido aumento de carga, total conversão de tiosulfato a sulfato, baixa formação de amônia e sulfeto. A análise de sulfeto não foi ilustrada na Figura 5.7 por ter sido realizada em períodos eventuais e em todas as situações não foi detectada a formação deste composto. Pela capacidade de conversão de substratos, poder-se-ia diminuir o tempo de retenção hidráulico (5 dias), porém o objetivo do reator era apenas manter uma flora de microrganismos ativa para promover os estudos cinéticos.

Analisando-se os dados de entrada de substratos e produtos, percebe-se a alta eficiência do sistema, em média, em torno de 92% de remoção de nitrato, resultado coerente com o estudo de Monn et al. (2004) e Wang et al. (2005). A formação de sulfato acima do valor de entrada sugere uma acumulação no sistema, ou pode ser devido a uma variação da metodologia analítica para concentrações elevadas de sulfato. Testes com adição padrão (descritos no item 5.1.5, pág. 73) sugerem que não há atuação de interferentes.

Na Tabela 5.18, observam-se as eficiências do processo em cada etapa da operação. As eficiências de remoção de nitrogênio e conversão de sulfato, em cada fase, foram calculadas de acordo com a Equação 5.2 e 5.3, respectivamente. Nas fases I e II, praticamente desnitrificação total, e na fase III um pequeno residual de nitrato promoveu a redução da eficiência. Na fase III, houve uma oscilação maior de dados devido à remoção de biomassa para realização dos ensaios, caracterizando assim períodos com residual de nitrato e variação de sulfato, mas, em média, manteve-se uma elevada conversão de substratos.

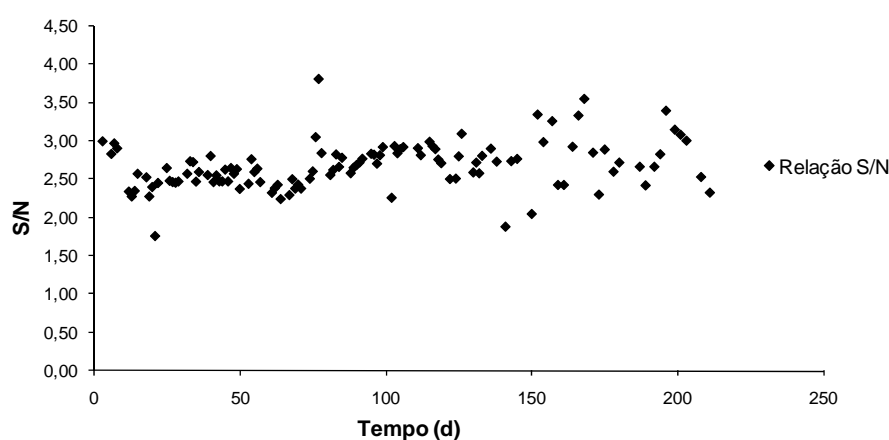
$$N_{\text{removido}}(\%) = \left(\frac{(N - \text{NO}_3^-)_e - (N - \text{NO}_3^-)_s}{(N - \text{NO}_3^-)_e} \right) * 100 \quad 5.2$$

$$S_{\text{convertido}}(\%) = 100 - \left[\left(\frac{(S - \text{S}_2\text{O}_3^{-2})_e - (S - \text{SO}_4^{2-})_s}{(S - \text{S}_2\text{O}_3^{-2})_e} \right) * 100 \right] \quad 5.3$$

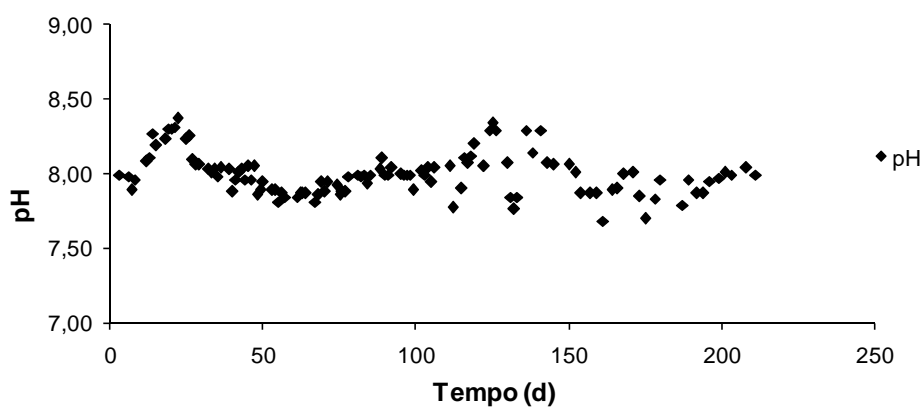
Tabela 5.18: Eficiência do processo em cada fase de operação do reator contínuo

Fase	Remoção de Nitrogênio	Conversão a sulfato
I	92%	100%
II	95%	100%
III	88%	100%

A seguir, na Figura 5.8, observa-se a razão mássica S/N de entrada do reator, tendo como valor médio 2,62 (relativamente próximo ao estequiométrico 2,857).

**Figura 5.8:** Relação mássica S/N de entrada do reator contínuo

Analisando-os dados da Figura 5.9 percebe-se que o pH permaneceu em uma faixa de 7,7 a 8,37, e em média 8,00, que, para microrganismos como *Thiobacillus denitrificans*, que promove a desnitrificação autotrófica, é considerado ideal (Kleijian 2005).

**Figura 5.9:** Variação do pH no reator contínuo

O reator contínuo foi inoculado com uma concentração celular de 4gSSV.L⁻¹, entretanto esta concentração não se manteve, evidenciando um decréscimo. Os dados de variação da concentração celular, durante a operação do reator podem ser visualizados na Tabela 5.19.

Tabela 5.19: Variação da concentração celular durante a operação do reator contínuo

Fase	X (g SSV.L ⁻¹)
I	3,41
II	3,08
III	2,83

Balanco de massa – Nitrato consumido (N-NO₃⁻)

A Equação 5.4 apresenta o balanço de massa para o nitrogênio na forma de nitrato, que está sendo convertido em nitrogênio gasoso. Supõe-se que todo o nitrato está sendo reduzido a N₂ e não há acúmulo de nitrito.

$$\frac{d(N - NO_3^-)}{dt} = D \times (N - NO_3^-)_e - D \times (N - NO_3^-)_s - (\mu_{N^-} \times X) \quad 5.4$$

Onde:

N-NO₃⁻_e: concentração de nitrogênio (nitrato) na alimentação do reator (mg N-NO₃⁻.L⁻¹);

N-NO₃⁻_s: concentração de nitrogênio (nitrato) no efluente ou no reator (mg N-NO₃⁻.L⁻¹);

D: vazão específica (d⁻¹)

μ_N: velocidade específica de consumo de nitrato (mg N-NO₃⁻.(gSSV.d)⁻¹);

X: concentração celular (gSSV.L⁻¹).

Considerando-se estado pseudo-estacionário para determinados períodos do reator, tem-se que:

$$\frac{d(N - NO_3^-)}{dt} = 0 \quad 5.5$$

Assim:

$$\mu_N = \frac{D \times (N - NO_3^-_e - N - NO_3^-_s)}{X} \quad 5.6$$

Sendo D calculado pela equação 5.7:

$$D = \frac{Q}{V} = \frac{2L/d}{10L} = 0,2 \, d^{-1} \quad 5.7$$

Onde Q: vazão de alimentação (2L.d⁻¹)

V: volume do reator (10L)

Através da Equação 5.6 pode-se calcular a velocidade específica de consumo de nitrato de cada fase de operação do reator. Para realização destas medidas, definiu-se o período considerado em estado pseudo-estacionário, além das concentrações médias de nitrato afluente e efluente, e a concentração celular média de cada fase, conforme apresentado na Tabela 5.20.

Tabela 5.20: Velocidades específicas de consumo de nitrato em cada fase de operação do reator contínuo

Fase	Período (dias)	N-NO ₃ ⁻ _e (mg.L ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ _s (mg.L ⁻¹)	X (g SSV.L ⁻¹)	μ _N (mg N-NO ₃ ⁻ .(g SSV.d) ⁻¹)
I	12-25	41,30	3,73	3,41	2,20
II	32-50	114,35	6,12	3,08	7,03
III	57-211	182,57	21,11	2,83	11,41

Observando-se os resultados, percebem-se os baixos valores de velocidades específicas de consumo de nitrato, isto se deve em parte ao TRH elevado, evidenciando assim a possibilidade de redução deste e, conseqüentemente, o aumento da atividade dos microrganismos. No entanto, o reator tinha como principal função manter a flora bacteriana ativa, e adaptar os microrganismos ao processo de desnitrificação autotrófica via oxidação do

enxofre. Demonstra-se ainda que, à medida que houve um incremento na concentração de substrato esta velocidade também aumentou ratificando a adaptação dos mesmos ao processo.

É nítido que, devido à suposição de que todo o nitrato consumido é removido como N_2 , as velocidades de consumo de nitrato e formação de nitrogênio molecular sejam idênticas. Assim, as velocidades específicas de produção de N_2 são as mesmas apresentadas para o consumo de nitrato, apresentados na Tabela 5.20.

Balanco de massa – Sulfato produzido ($S-SO_4^{-2}$)

Devido à ausência de uma metodologia capaz de quantificar a variação da concentração de tiosulfato em efluentes, o balanço de massa de enxofre limitou-se à formação de sulfato. O balanço de massa de sulfato foi calculado baseado na Equação 5.8.

$$\frac{d(S - SO_4^{-2})}{dt} = -D \times (S - SO_4^{-2}) - (\mu_s \times X) \quad 5.8$$

Onde:

$S-SO_4^{-2}$: concentração de sulfato produzido no reator ($mg S-SO_4^{-2}L^{-1}$);

D: vazão específica (d^{-1})

μ_s : velocidade específica de produção de sulfato ($mg S-SO_4^{-2} \cdot (gSSV \cdot d)^{-1}$);

X: concentração celular ($gSSV \cdot L^{-1}$).

Adotando-se as mesmas considerações para vazão específica (D), o mesmo período de estado pseudo-estacionário e a concentração celular, determinaram-se as velocidades de produção de sulfato (Tabela 5.21).

Tabela 5.21: Velocidades de formação de sulfato em cada fase de operação do reator contínuo

Fase	Período (dias)	$S-SO_4^{-2}$ ($mg \cdot L^{-1}$)	X ($g SSV \cdot L^{-1}$)	μ_s ($mg S-SO_4^{-2} \cdot (g SSV \cdot d)^{-1}$)
I	12-25	107,38	3,41	6,30
II	32-50	326,34	3,08	21,19
III	57-211	548,62	2,83	38,77

Assim como nas velocidades específicas de consumo de nitrato, houve um incremento à medida que se aumentou a concentração de substratos, para as velocidades específicas de produção de sulfato. Considera-se que neste caso a velocidade de oxidação de tiosulfato seja similar à formação de sulfato, assim:

$$\mu_s = \mu_{S_2O_3^{2-}} \quad 5.9$$

Relação entre a produção de sulfato e remoção de nitrogênio

De acordo com a estequiometria expressa pela equação 4.1 (item 4.1.4 – pág. 48), a relação entre nitrogênio removido (N-N₂) e sulfato produzido (S-SO₄⁻²) é de 0,35 mgN-N₂.(mg S-SO₄⁻²)⁻¹. Para verificar se o processo de desnitrificação via oxidação do tiosulfato de fato ocorreu, determinou-se a relação Y_{N/S} (fator de conversão do sulfato produzido em nitrogênio removido) através da Equação 5.10. Este cálculo baseou-se nas velocidades específicas de consumo de nitrato (ou formação de N₂) e velocidades de produção de sulfato determinadas no item anterior. Na Tabela 5.22, estão representados estes valores.

$$Y_{N/S} = \frac{\mu_N}{\mu_S} \quad 5.10$$

Tabela 5.22: Relação Y_{N/S} em cada fase de operação do reator contínuo

Fase	μ_N (mg N-NO ₃ ⁻ /g SSV. d)	μ_S (mg S-SO ₄ ⁻² /g SSV. d)	Y _{N/S} (mgN-NO ₃ ⁻ / mg S-SO ₄ ⁻²)
I	2,20	6,30	0,349
II	7,03	21,19	0,332
III	11,41	38,77	0,294

Claro está que realmente o processo estabelecido no reator anaeróbio é a desnitrificação via oxidação do tiosulfato, ratificada pelos valores de Y_{N/S} próximos ao estequiométrico. Salienta-se ainda que, ocorreu uma redução do fator à medida que a concentração de substratos elevou-se. Isto pode ter ocorrido pela oxidação de tiosulfato por

outros processos metabólicos que a desnitrificação autotrófica, visto que aumentou a disponibilidade de substratos e por se tratar de uma cultura mista.

5.3 Monitoramento da biomassa desenvolvida no reator contínuo

Visando avaliar atividade da biomassa em cada fase da operação realizaram-se ensaios cinéticos, conforme o item 4.2.1. Nos ensaios cinéticos foram mantidas as condições de concentração celular (2g SSV.L^{-1} ; temperatura de $30\text{ }^{\circ}\text{C}$; variando-se apenas a concentração de enxofre). Nas Figuras 5.10, 5.11 e 5.12, pode-se observar os resultados das cinéticas com as concentrações de tiosulfato em 100 , 300 e $500\text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{-2}.\text{L}^{-1}$, respectivamente. Para cada fase de operação do reator contínuo, descritos no item 4.1.4, determinaram-se as velocidades específicas de consumo de nitrato e produção de sulfato, além da relação $Y_{\text{N/S}}$. Estes resultados estão apresentados na Tabela 5.23. As velocidades de consumo de nitrato e sulfato foram obtidas durante a fase exponencial das cinéticas, garantido assim as velocidades máximas.

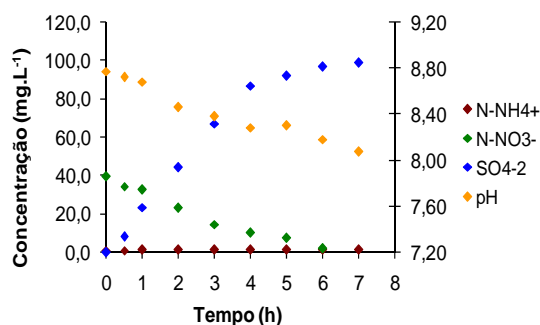


Figura 5.10: Ensaio cinético de monitoramento da cultura de microrganismos na fase I – $100\text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{-2}.\text{L}^{-1}$

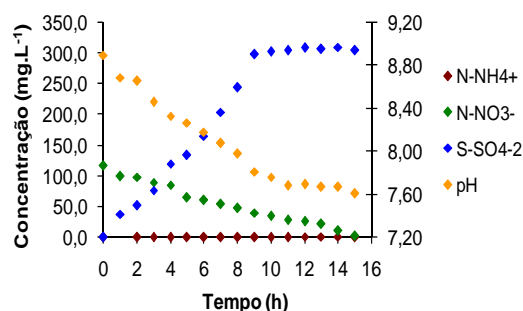


Figura 5.11: Ensaio cinético de monitoramento da cultura de microrganismos na fase II – $300\text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{-2}.\text{L}^{-1}$

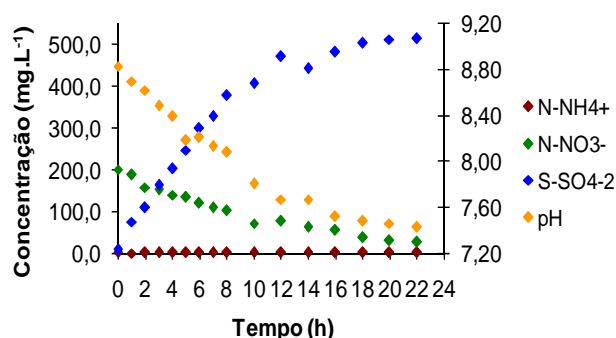


Figura 5.12: Ensaio cinético de monitoramento da cultura de microrganismos na fase III – $500\text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{-2}.\text{L}^{-1}$

Tabela 5.23: Monitoramento da biomassa em cada condição de operação do reator contínuo

Concentração $\text{mgS-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$	μ_{N} $\text{mgN-NO}_3^{-} \cdot (\text{gSSV} \cdot \text{h})^{-1}$	μ_{S} $\text{mgS-SO}_4^{-2} \cdot (\text{gSSV} \cdot \text{h})^{-1}$	$Y_{\text{N/S}}$ $\text{mgN-NO}_3^{-} \cdot (\text{mg S-SO}_4^{-2})^{-1}$
100	3,156	9,848	0,32
300	3,616	15,619	0,23
500	5,387	19,261	0,28

Destaca-se o fato que estes ensaios foram realizados no começo de cada fase, após o período transiente, tendo a possibilidade de aumento da atividade à medida que se estabeleceu o estado pseudo-estacionário. Percebe-se ainda que os ensaios cinéticos foram feitos com um pequeno excesso de nitrato o que não interferiu no ensaio, existindo apenas um residual ao final da cinética. O incremento dos valores de μ_{N} e μ_{S} evidencia a adaptação e o aumento da atividade biológica com a maior concentração de substratos. Entretanto, não se observou uma tendência para os valores calculados de $Y_{\text{N/S}}$, observando-se ainda uma discrepância do valor em relação ao estequiométrico ($0,35 \text{ mgN-NO}_3^{-} \cdot (\text{mg S-SO}_4^{-2})^{-1}$) na condição da fase II.

Após o estabelecimento do período de estado pseudo-estacionário na fase III, seguiu-se a coleta de biomassa para realização do estudo cinético de desnitrificação autotrófica.

5.4. Ensaios cinéticos com a biomassa

5.4.1 Variação da concentração celular

O primeiro ensaio cinético foi realizado com a finalidade de avaliar a influência da relação S_0/X_0 (substrato/concentração celular). Seguindo a metodologia descrita no item 4.1.4, fixou-se a concentração em $500 \text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$, a relação molar de 10/8 (estequiométrica), conseqüentemente a de nitrato em $175 \text{ mgN-NO}_3^{-} \cdot \text{L}^{-1}$. As condições para o ensaio podem ser visualizadas no item 4.2.1., Tabela 4.4 (pág. 52).

Nas Figuras 5.13, 5.14 e 5.15 observam-se as cinéticas nas condições de $1 \text{ g SSV} \cdot \text{L}^{-1}$; $2 \text{ g SSV} \cdot \text{L}^{-1}$ e $3 \text{ g SSV} \cdot \text{L}^{-1}$, respectivamente.

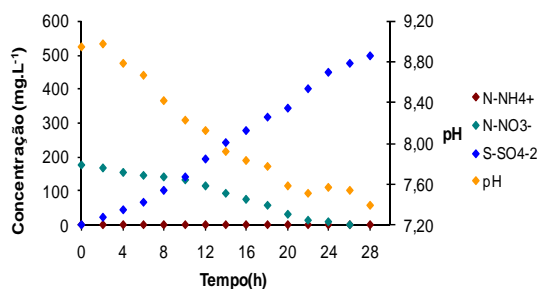


Figura 5.13: Ensaio cinético na concentração celular de 1 gSSV.L⁻¹ (relação molar S/N = 10/8)

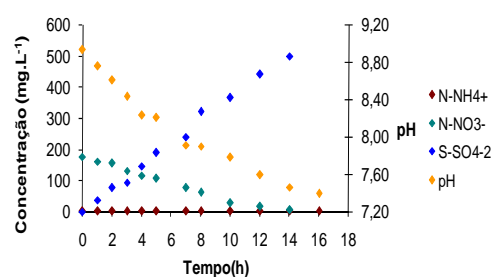


Figura 5.14: Ensaio cinético na concentração celular de 2 gSSV.L⁻¹ (relação molar S/N = 10/8)

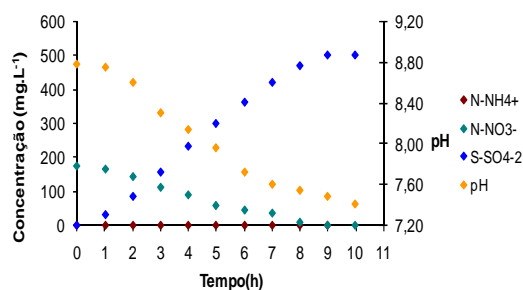


Figura 5.15: Ensaio cinético na concentração celular de 3 gSSV.L⁻¹ (relação molar S/N = 10/8)

Para uma melhor visualização e comparação dos resultados, a Figura 5.16 apresenta as curvas de consumo de nitrato e produção de sulfato nas três concentrações do inóculo.

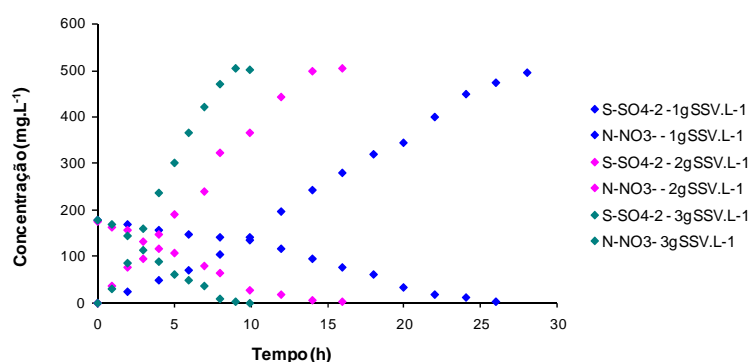


Figura 5.16: Ensaios cinéticos em diferentes concentrações celulares (relação molar S/N = 10/8)

A relação S_0/X_0 influenciou o tempo para a completa desnitrificação. O aumento gradativo da concentração propiciou uma diminuição do tempo necessário para a redução do

nitrito. Na concentração de 1 gSSV.L⁻¹ o tempo foi de 28 h, de 2 gSSV.L⁻¹ de 14 h e 3 gSSV.L⁻¹ de 9h..

Na Tabela 5.24, estão representadas as concentrações médias para cada ensaio, além da média de sólidos da cinética e a relação experimental S_0/X_0 . Na Tabela 5.25, encontram-se as velocidades específicas de consumo de nitrito, produção de sulfato, e o fator $Y_{N/S}$.

Tabela 5.24: Condições dos ensaios das cinéticas em diferentes concentrações celulares

Concentração celular gSSV.L ⁻¹	Concentração mgS-S ₂ O ₃ ⁻² .L ⁻¹	Concentração mgN-NO ₃ ⁻ .L ⁻¹	S _{S₂O₃-2} /X (mgS/gSSV)	S _{NO₃} /X (mgN/gSSV)
1,17	494,9	176,8	423,0	151,1
2,18	503,8	175,5	231,1	80,5
3,28	501,0	177,8	152,7	54,2

Tabela 5.25: Velocidades específicas de consumo de nitrito e produção de sulfato em cada relação S_0/X_0

Concentração celular (gSSV.L ⁻¹)	r_N (mgN-NO ₃ ⁻ .L ⁻¹)	r_S (mgS-SO ₄ ⁻² .L ⁻¹)	μ_N (mgN-NO ₃ ⁻ /gSSV.h)	μ_S (mgS-SO ₄ ⁻² /gSSV.h)	$Y_{N/S}$ (mgN-NO ₃ ⁻ /mg S-SO ₄ ⁻²)
1,17	7,164	19,005	6,123	16,243	0,377
2,18	13,046	36,458	5,984	16,724	0,358
3,28	19,562	60,445	5,964	18,428	0,324

Analisando-se as velocidades específicas de consumo de nitrito e formação de sulfato não é nítida a influência da relação S_0/X_0 para a faixa de relação estudada. A tendência seria obter ensaios cinéticos mais rápidos, e velocidades de consumo maiores, em relações com concentração celular maior, porém não se realizou estes ensaios devido às questões operacionais, como a filtração, que na condição de 3 gSSV.L⁻¹ já se apresentou bastante complicada.

Dessa forma, para continuidade do estudo, optou-se pela condição de 2 gSSV.L⁻¹ que teve uma remoção satisfatória em um tempo relativamente curto de ensaio. Os valores de $Y_{N/S}$ confirmam o estabelecimento do processo de desnitrificação, via oxidação do tiosulfato.

5.4.2 Ensaios cinéticos em diferentes relações molares S/N

Definida a melhor concentração celular, 2 gSSV.L^{-1} , iniciou-se o estudo da melhor relação S/N para o estabelecimento do processo de desnitrificação autotrófica via oxidação do enxofre. Baseado na Equação 4.1 (pág.48), optou-se por realizar ensaios em três relações molares $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}/\text{NO}_3^-$, 5/6; 5/8; 5/10, que, em termos de elementos (S/N), corresponde a 10/6; 10/8; 10/10, respectivamente. As condições das cinéticas podem ser visualizadas na Tabela 4.5 (pág. 52), e os dados experimentais na Tabela 5.26.

Tabela 5.26: Condições das cinéticas das relações molares S/N

Relação S/N	Condições da cinética		Sólidos (gSSV.L^{-1})
	Tiossulfato ($\text{mgS-S}_2\text{O}_3^{2-}.\text{L}^{-1}$)	Nitrato ($\text{mg N-NO}_3^-. \text{L}^{-1}$)	
10/6	500 (394,8)*	144,8	2,18
10/8	500 (500,6)*	173,8	1,85
10/10	500 (497,62)*	230,6	1,96

* Sulfato formado

Na sequência, visualiza-se o resultado das cinéticas em cada condição definidas anteriormente, apresentadas na Figuras 5.17; 5.18 e 5.19, respectivamente.

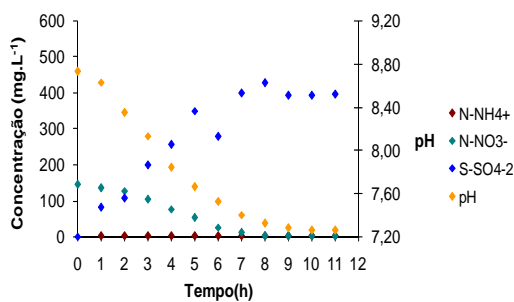


Figura 5.17: Ensaio cinético na relação molar S/N = 10/6

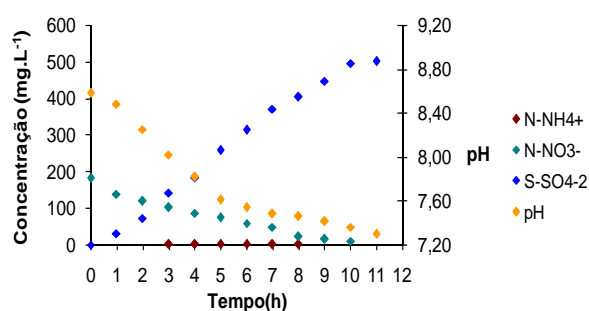


Figura 5.18: Ensaio cinético na relação molar S/N = 10/8

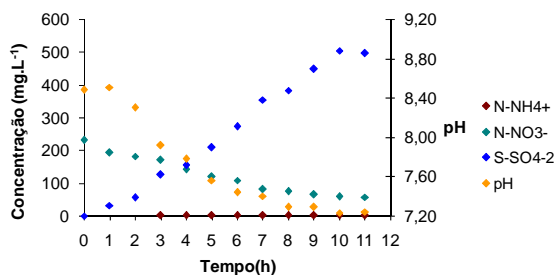


Figura 5.19: Ensaio cinético na relação molar S/N = 10/10

Observando-se as cinéticas em diferentes relações S/N percebe-se que, na condição de limitação de acceptor de elétrons, relação 10/6, o ensaio cinético limitou-se a um período de tempo menor (7h), não ocorrendo a completa oxidação de tiosulfato (78,8% de conversão). Destaca-se ainda que, nesta condição, houve uma concentração de entrada ($144 \text{ mgN-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$) um pouco acima da teórica ($131 \text{ mgN-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$), em decorrência do residual de nitrato da lavagem da biomassa. Na condição estequiométrica (10/8) e de excesso de acceptor de elétrons (10/10), o tempo decorrido para oxidação completa de tiosulfato foi idêntico, de 10 h. Salienta-se ainda que a concentração celular foi próxima em cada condição estudada, não interferindo assim no tempo de ensaio. Na relação 10/10 houve um residual de nitrato após a completa oxidação de tiosulfato, não sendo consumido por nenhuma outra via metabólica até o fim do período de acompanhamento da cinética. Em todas as relações é perceptível a queda de pH decorrente do processo de desnitrificação autotrófico via enxofre, mostrando a importância do controle deste através da adição de bicarbonato.

Analisando-se os valores de velocidade específica de consumo de nitrato e produção de sulfato, apresentados na Tabela 5.27, percebe-se que estas ficaram próximas, devido à determinação nas fases exponenciais.

Tabela 5.27: Velocidade específica de consumo de nitrato e produção de sulfato em cada relação S/N

Relação S/N	$\mu_N (\text{mgN-NO}_3^- \cdot (\text{gSSV} \cdot \text{h})^{-1})$	$\mu_S (\text{mgS-SO}_4^{2-} \cdot (\text{gSSV} \cdot \text{h})^{-1})$
10/6	9,016	25,304
10/8	8,752	28,163
10/10	8,874	26,652

Na Tabela 5.28 pode ser feita uma análise do fator de conversão $Y_{N/S}$, que indica que os valores ficaram próximos ao estequiométrico ($0,35 \text{ mgN-NO}_3^- \cdot (\text{mg S-SO}_4^{2-})^{-1}$), mesmo nas condições de limitação ou excesso de acceptor de elétrons.

Zdradek (2005) operando um reator SBR destinado à nitrificação e desnitrificação heterotrófica simultâneas, relata que, a quantidade de matéria orgânica necessária para que todo o nitrito seja reduzido a N_2 , seja superior a 1,25 a 1,5 vezes a estequiométrica. Este incremento de matéria orgânica se explica pelo crescimento mais rápido de bactérias heterotróficas em relação às autotróficas. Assim, conclui-se, que ao contrário da

desnitrificação heterotrófica, a desnitrificação via oxidação de uma forma de enxofre não é necessária a adição em excesso de doador de elétrons, escolhendo assim a relação 10/8 (S/N) para a continuidade da pesquisa.

Tabela 5.28: Fator de conversão $Y_{N/S}$ em diferentes relações S/N

Relação S/N	$Y_{N/S}$ ($\text{mgN-NO}_3^- \cdot (\text{mg S-SO}_4^{-2})^{-1}$)
10/6	0,356
10/8	0,311
10/10	0,333

5.4.3 Ensaio cinéticos em diferentes concentrações de enxofre (S)

Baseado nos ensaios anteriores, definiu-se a concentração de 2gSSV.L^{-1} e a relação S/N de 10/8 como condições para os ensaios em diferentes relações S_0/X_0 . Neste caso, fixado X_0 em 2 gSSV.L^{-1} , variou-se a concentração de $\text{S-S}_2\text{O}_3^{-2}$ e N-NO_3^- conforme descrito na Tabela 5.29. Na mesma tabela, está representado o teor médio de sólidos calculado em cada experimento. Os experimentos foram feitos de acordo com a metodologia 4.2.1 (pág. 48).

Tabela 5.29: Condições das cinéticas em diferentes concentrações de enxofre

Relação S/N	Condições da cinética		Sólidos (gSSV.L^{-1})
	Tiossulfato ($\text{mgS-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$)	Nitrato ($\text{mg N-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$)	
10/8	100	35	1,97
	300	105	1,84
	500	175	1,85
	700	245	1,80
	900	315	1,97

Na sequência, estão representadas nas Figuras 5.20, 5.21, 5.22, 5.23 e 5.24 as cinéticas em distintas concentrações de substratos.

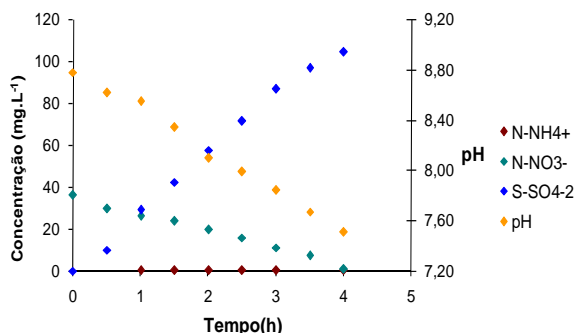


Figura 5.20: Ensaio cinético com 100 mgS-S₂O₃²⁻.L⁻¹ (Relação molar S/N = 10/8)

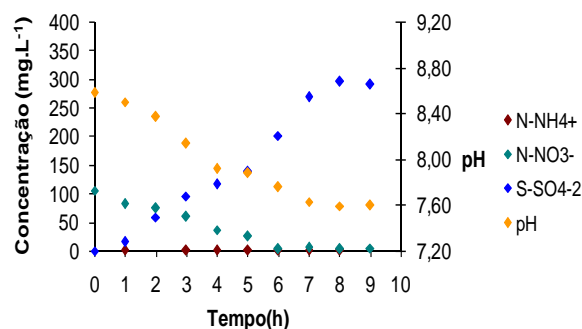


Figura 5.21: Ensaio cinético com 300 mgS-S₂O₃²⁻.L⁻¹ (Relação molar S/N = 10/8)

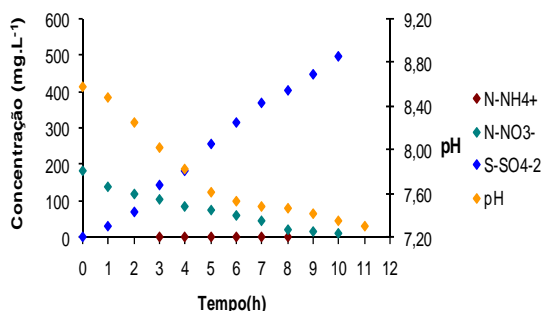


Figura 5.22: Ensaio cinético com 500 mgS-S₂O₃²⁻.L⁻¹ (Relação molar S/N = 10/8)

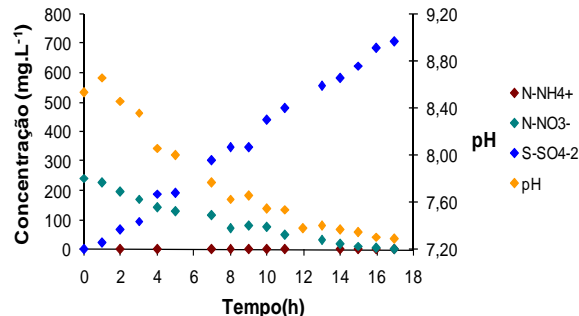


Figura 5.23: Ensaio cinético com 700 mgS-S₂O₃²⁻.L⁻¹ (Relação molar S/N = 10/8)

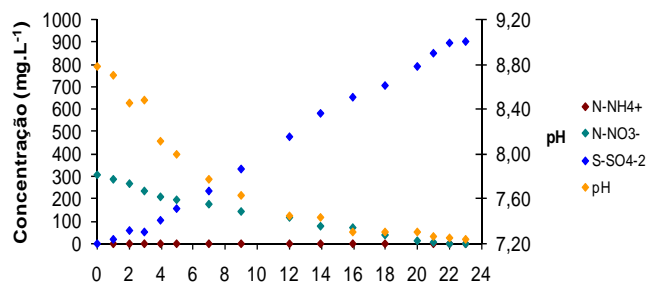


Figura 5.24: Ensaio cinético com 900 mgS-S₂O₃²⁻.L⁻¹ (Relação molar S/N = 10/8)

Analisando os dados obtidos nas cinéticas e de eficiência do processo, apresentados na Tabela 5.30, percebe-se que o processo de desnitrificação autotrófica foi amplamente

estabelecido com total conversão de enxofre em todas as condições estudadas, e elevada remoção de nitrogênio. Atribui-se o residual de nitrogênio em algumas condições a possíveis intermediários do processo de redução de nitrato, excetuando-se amônia, que se manteve em níveis irrelevantes. Considera-se também a inexistência da fase lag de consumo de substratos, evidenciando que a biomassa utilizada estava adaptada ao processo, mesmo em condições de concentração maior que o reator anaeróbio ($>500 \text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$). Como é típico do fenômeno de desnitrificação autotrófica via enxofre, o pH tendeu a baixar devido à liberação de íons H^+ , sendo esta queda atenuada pela adição de bicarbonato de sódio (fonte de carbono e corretivo de pH).

Tabela 5.30: Eficiência de remoção de nitrogênio e conversão de enxofre em cada concentração de substrato

Concentração de Enxofre ($\text{mgS-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$)	Remoção de Nitrogênio (%)	Conversão de enxofre (%)
100	97,5	100
300	95,9	99,9
500	95,2	100
700	99,6	100
900	99,8	100

Os resultados apresentados nas Figuras 5.23 a 5.27, de produção de sulfato e remoção de nitrogênio, já foram ilustrados, entretanto para uma melhor visualização foram mostrados em uma única Figura 5.25 e 5.26, respectivamente. Comparando-se a produção de sulfato e remoção de nitrogênio é perceptível que na condição de $100 \text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$ há uma tendência distinta das demais em termos de velocidade (inclinação da curva), indicando que, em níveis baixos de concentração de enxofre a velocidade de produção de sulfato e consumo de nitrato, é reduzida. O tempo de ensaio foi proporcional à concentração de substratos, chegando-se a valores próximos de 25h para a concentração de $900 \text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$, fixada a concentração celular em $2 \text{ g SSV} \cdot \text{L}^{-1}$.

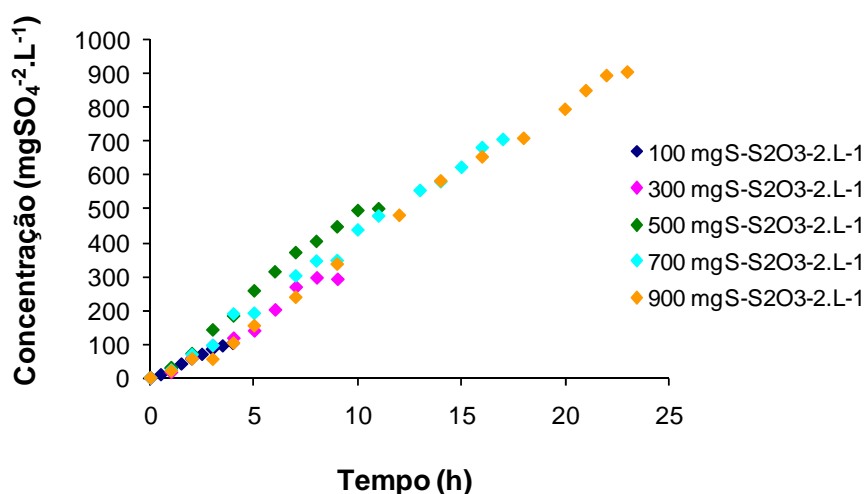


Figura 5.25: Produção de $S-SO_4^{2-}$ em diferentes concentrações de enxofre

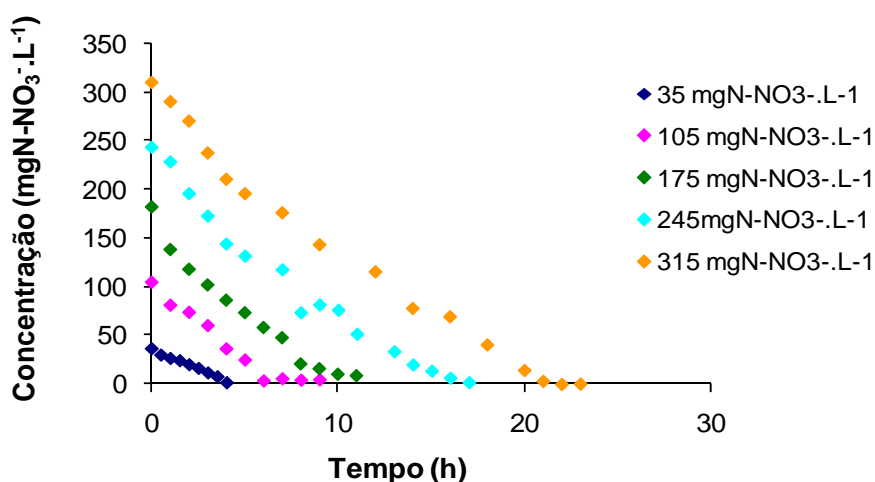


Figura 5.26: Consumo de $N-NO_3^-$ em diferentes concentrações de nitrogênio

Baseado na análise de sólidos e nas determinações da velocidade, calcularam-se as velocidades específicas de formação de sulfato e remoção de nitrogênio, assim como o fator de conversão de sulfato produzido em nitrogênio removido, estes resultados estão apresentados na Tabela 5.31. O cálculo da velocidade específica ratificou o fato que, em condições de baixa concentração de substrato, houve uma assimilação mais lenta destes, quando comparado com situações de concentrações maiores. Assim como em ensaios anteriores, o fator de conversão $Y_{N/S}$ aproximou-se do estequiométrico ($0,35 \text{ mgN-NO}_3^- \cdot (\text{mg S-SO}_4^{2-})^{-1}$), mostrando mais uma vez o estabelecimento do processo em diferentes concentrações. Santana (2006) obteve resultados similares estudando a eliminação autotrófica

de nitrogênio via integração do ciclo do enxofre, em reator SBR, operado em distintas condições. Para uma das condições Santana (2006) obteve $5,39 \text{ (mgN-NO}_3^-\text{.(gSST.h)}^{-1}\text{)}$ e $24,61 \text{ (mgS-SO}_4^{2-}\text{.(gSST.h)}^{-1}\text{)}$; e em outro experimento $11,64 \text{ (mgN-NO}_3^-\text{.(gSST.h)}^{-1}\text{)}$ e $21,46 \text{ (mgS-SO}_4^{2-}\text{.(gSST.h)}^{-1}\text{)}$.

Tabela 5.31: Velocidades específicas de consumo de nitrato e produção de sulfato em distintas concentrações de enxofre

Concentração $\text{mgS-S}_2\text{O}_3^{2-}.\text{L}^{-1}$	Concentração $\text{mgN-NO}_3^-\text{.L}^{-1}$	μ_{N} $\text{mgN-NO}_3^-\text{.(gSSV.h)}^{-1}$	μ_{S} $\text{mgS-SO}_4^{2-}\text{.(gSSV.h)}^{-1}$	$Y_{\text{N/S}}$ $\text{mgN-NO}_3^-\text{.(mg S-SO}_4^{2-})^{-1}$
104,56	36,23	4,172	13,936	0,299
295,82	105,00	7,327	20,552	0,356
500,62	173,78	8,752	28,163	0,311
706,55	243,453	7,814	23,802	0,328
903,6	310,33	6,737	21,248	0,317

Observando-se os valores de velocidades específicas de consumo de nitrato e de formação de sulfato, percebe-se que o limite do sistema ainda não foi atingido, a inibição em termos de substratos ainda é incipiente para a concentração de $900 \text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{2-}.\text{L}^{-1}$.

Definidas as velocidades de consumo de nitrato e formação de sulfato, é fundamental estabelecer uma correlação entre estas e as concentrações de substratos, gerando-se assim modelos matemáticos que possam ser úteis para descrever o fenômeno, compreender e otimizar o processo. Distintos são os modelos cinéticos aplicados para estabelecer uma relação entre as variáveis, podendo-se citar Monod, Teisser, Moser, Contois e Andrews. Através da visualização da Figura 5.27 e da Figura 5.28, onde estão representadas a velocidade de formação de sulfato e concentração de tiosulfato, e a relação entre a velocidades específicas de consumo de nitrato e a concentração de nitrato, respectivamente, é viável a aplicação do modelo de Monod. Poder-se-ia aplicar o modelo de Andrews, determinando-se assim a constante de inibição do processo. Entretanto, para melhor determinação das constantes cinéticas e aplicação do modelo de Andrews, seria necessário obter mais pontos experimentais. Assim, aplicou-se o modelo de Monod, conforme a Equação 5.11.

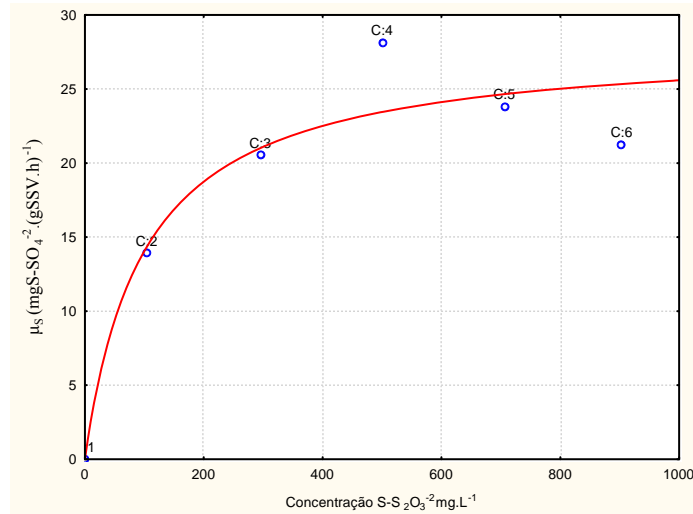


Figura 5.27: Aplicação do modelo de Monod para a relação μ_s e concentração de enxofre

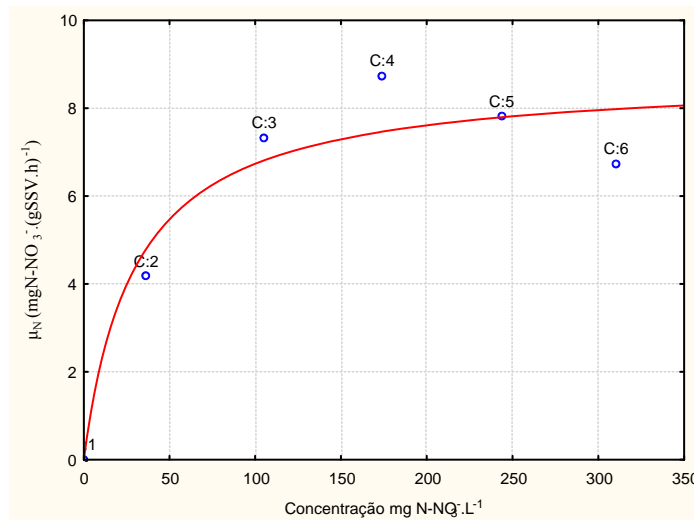


Figura 5.28: Aplicação do modelo de Monod para a relação μ_N e concentração de nitrato

$$\mu = \mu_{\max} * \left(\frac{S}{K_s + S} \right)$$

5.11

Onde:

μ = velocidade específica de crescimento celular

μ_{\max} = velocidade específica máxima de crescimento

S = concentração de substrato

K_s = constante de saturação (concentração de substrato para qual μ atinge o valor $\frac{\mu_{\max}}{2}$)

K_N = constante de saturação relativa ao substrato nitrogênio

Dividindo-se a Equação 5.11, por $Y_{X/S}$, tem-se que:

$$\frac{\mu}{Y_{X/S}} = \frac{\mu_{\max}}{Y_{X/S}} * \left(\frac{S}{K_S + S} \right) \quad 5.12$$

Sabe-se que:

$$Y_{X/S} = \frac{\mu}{\mu_S} \quad 5.13$$

Assim, $\mu_S = \frac{\mu}{Y_{X/S}}$, então:

$$\mu_S = \mu_{MAX\ EXP} * \left(\frac{S}{K_S + S} \right) \quad 5.14$$

Onde:

μ_S = velocidade específica de consumo de substrato

$\mu_{MAX\ EXP}$ = velocidade específica máxima de consumo de substrato, sendo considerada a experimental

A estimativa dos parâmetros K_S e K_N foram feitas baseada nos dados descritos na Tabela 5.31. Definiu-se como velocidade específica máxima de consumo de nitrato 8,752 $\text{mgN-NO}_3^-(\text{gSSV.h})^{-1}$ e como velocidade específica máxima de formação de sulfato como 28,163 $\text{mgS-SO}_4^{2-}(\text{gSSV.h})^{-1}$. Com estes dados e aplicando o programa Statistic 6.0, sendo a Equação 5.14 a de ajuste do modelo, utilizou-se de uma regressão não linear para ajuste dos dados ao modelo proposto. Através do método dos mínimos quadrados, pela metodologia Quasi-Newton, determinou-se os valores de K_S e K_N .

Na Tabela 5.32 está demonstrado o resultado da estimativa dos parâmetros para as velocidades específicas de produção de sulfato e consumo de nitrato.

Tabela 5.32: Estimativa dos parâmetros cinéticos

Parâmetros cinéticos		R^2
K_S	100,53 mg S-S ₂ O ₃ ⁻² .L ⁻¹	0,958
K_N	29,96 mg N-NO ₃ ⁻ .L ⁻¹	0,962

Sabendo-se que o parâmetro K_S também se associa à idéia do inverso da afinidade do microrganismo pelo substrato proposto, e analisando-se o resultado apresentado na Tabela 5.32, observa-se que existe uma afinidade maior da cultura ao nitrato do que ao tiosulfato.

Na literatura, muitos estudos têm sido dedicados à determinação de parâmetros cinéticos para o processo de desnitrificação. Vasiliadou *et al.* (2006), utilizando cultura mista de microrganismos, pesquisaram a desnitrificação hidrogenotrófica e estimaram os parâmetros cinéticos através do modelo de Andrews ($K_i = 263$ mg N-NO₃⁻.L⁻¹) e Monod; Soto *et al.* (2007) determinaram a constante de saturação (0,47 mgN-NO₃⁻.L⁻¹) pelo modelo Monod para o processo de desnitrificação.

Entretanto, pouco estudo está difundido na literatura sobre os processos de remoção de enxofre e principalmente sobre a desnitrificação via integração dos ciclos. Kuo & Shu (2004) definiram a constante de saturação ($K_s = 147,30$ mg S-SO₄⁻².L⁻¹) baseada no modelo de Monod para o processo de remoção de redução sulfato. Gadekar *et al.* (2006) determinaram, em seu estudo de oxidação de sulfeto via redução de nitrato por *Thiomicrospira* sp. CVO, o valor da constante de saturação (K_s) do modelo de Monod, sendo de 0,63 mM S⁻².L⁻¹ (ou 20,2 mgS⁻².L⁻¹). Zeng & Zhang (2005) compararam os parâmetros cinéticos do processo de desnitrificação autotrófica via oxidação de enxofre elementar, realizados com cultura mista, com estudos realizados com cultura pura. Estes valores estão representados na Tabela 5.33. Claus & Kutzner (1985) e Batchelor & Lawrence (1978) utilizando cultura pura de *Thiobacillus denitrificans* pesquisaram o processo de desnitrificação tendo como fonte de enxofre o tiosulfato e enxofre elementar, respectivamente.

Tabela 5.33: Comparação de parâmetro cinético obtidos por Zeng & Zhang (2005)

Parâmetro	Zeng & Zhang (2005)	Claus & Kutzner (1985)	Batchelor & Lawrence (1978)
K_S (mgN-NO ₃ ⁻ .L ⁻¹)	0,398	0,045	0,03

Pela análise dos parâmetros citados anteriormente com os obtidos neste estudo é nítido a discrepância entre estes, indicando que, apesar de utilizar o mesmo modelo cinético, este reflete uma condição específica de determinada biomassa, o comportamento desta perante um fenômeno, sendo inadequada a comparação de parâmetros obtidos em condições muito diferentes. A importância de se determinar estes parâmetros é compreender o metabolismo da cultura diante de substratos distintos.

Poder-se-ia ensaiar o modelo de Monod com dois substratos, mas para isso seria necessário realizar ensaios cinéticos fixando a concentração de um substrato, de forma não limitante, e variando a concentração do outro substrato. Entretanto, este não foi o escopo do presente trabalho, podendo ser realizado em trabalho futuro.

5.4.4 Crescimento celular

Na tentativa de estabelecer o crescimento celular e a conversão de substrato-célula realizou-se um experimento seguindo a metodologia descrita no item 4.2.1 (pág.48), quantificando a concentração celular em cada ponto amostral. A Figura 5.29 representa a cinética na condição de 500 mgS-S₂O₃⁻².L⁻¹ e 175 mgN-NO₃⁻.L⁻¹, iniciando a cinética com 2 g SSV.L⁻¹.

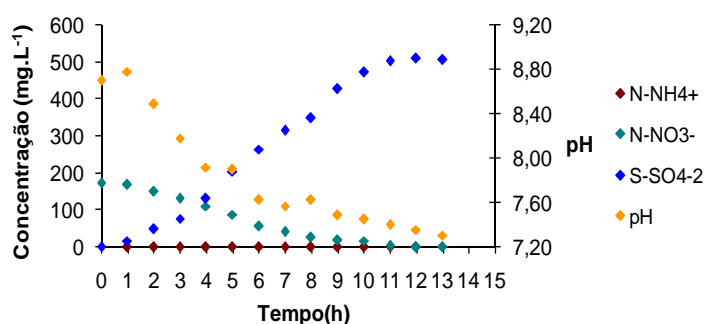


Figura 5.29: Ensaio cinético de conversão substrato-célula (S= 500 mgS-S₂O₃⁻².L⁻¹; N= 175 mgN-NO₃⁻.L⁻¹, X= 2 g SSV.L⁻¹)

A cinética manteve a característica de ausência de amônio, queda de pH, alta eficiência de remoção de nitrogênio (100%) e conversão de enxofre (100%), tempo de ensaio similar aos demais experimentos. É importante destacar que o substrato maior que o teórico proposto, ocorreu devido à existência de um residual de nitrato da lavagem de células, não interferindo na cinética. Da figura obtêm-se os dados de velocidades específicas e do fator de conversão (Tabela 5.34), sendo a concentração celular média de 1,93g SSV.L⁻¹. Análogo aos experimentos anteriores, o fator de conversão aproximou-se do estequiométrico e as velocidades específicas foram similares à cinética de mesma concentração do item 5.4.3, pág.93 (8,752 mgN-NO₃⁻.(gSSV.h)⁻¹ e 28,163 mgS-SO₄⁻².(gSSV.h)⁻¹).

Tabela 5.34: Velocidades específicas obtidas no ensaio de crescimento celular

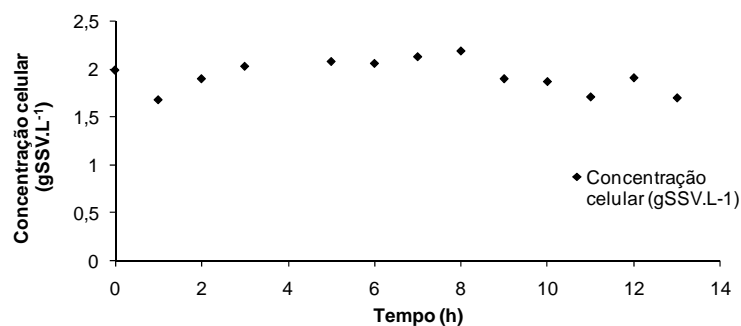
Cinética	Velocidade específica de consumo de nitrato mgN-NO ₃ ⁻ .(gSSV.h) ⁻¹	Velocidade específica de formação de sulfato mgS-SO ₄ ⁻² .(gSSV.h) ⁻¹	Y _{N/S} mgN-NO ₃ ⁻ . (mg S-SO ₄ ⁻²) ⁻¹
Crescimento celular	8,917	25,751	0,346

Utilizando-se os dados obtidos nesta cinética, determinou-se o fator de conversão Y_{N/S} para cada ponto da cinética. Estes dados podem ser visualizados na Tabela 5.35. Salienta-se o fato de que no começo da cinética o fator de conversão apresenta valores mais altos do que o estequiométrico (0,35 mgN-NO₃⁻.(mg S-SO₄⁻²)⁻¹), evidenciando um consumo mais acentuado de nitrato do que de tiosulfato, que pode ser o indicativo de que há a passagem do nitrato a nitrito, e posteriormente a oxidação do tiosulfato.

Tabela 5.35: Determinação do fator de conversão durante o ensaio cinético

Tempo (h)	Concentração $\text{mgN-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ (consumo de nitrato)	Concentração $\text{mgS-S}_2\text{O}_3^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ (formação de sulfato)	$Y_{N/S}$ $\text{mgN-NO}_3^- \cdot (\text{mg S-SO}_4^{2-})^{-1}$
0	-	-	-
1	4,917	17,869	0,457
2	22,946	50,170	0,544
3	41,958	77,071	0,477
4	63,265	132,739	0,414
5	84,900	204,902	0,445
6	117,680	264,202	0,418
7	131,888	315,059	0,425
8	148,114	348,048	0,364
9	155,218	426,395	0,331
10	157,021	473,129	0,338
11	169,806	501,994	0,338
12	172,756	510,241	0,344
13	173,903	504,743	0,344

A Figura 5.30 ilustra a variação da concentração de sólidos ($\text{gSSV} \cdot \text{L}^{-1}$) durante o experimento. A concentração média oscilou em torno de $2 \text{ gSSV} \cdot \text{L}^{-1}$, ficando evidente que não se pode determinar o crescimento celular com esta metodologia de ensaio, devido à variação amostral de biomassa em cada frasco de soro, principalmente dos grânulos anaeróbios. Destaca-se ainda o baixo fator de crescimento celular de microrganismos autotróficos quando comparado com heterotróficos. No entanto, a partir de 9h de ensaio esta concentração celular tendeu a diminuir, possibilitando assim a determinação do K_d (coeficiente de decaimento celular). Com o intuito de estabelecer um conjunto de dados relevantes para esta determinação procedeu-se um novo ensaio, com o diferencial de variar o tempo deste. Este resultados estão representados na Figura 5.31.

**Figura 5.30:** Variação da concentração celular durante a cinética de crescimento celular

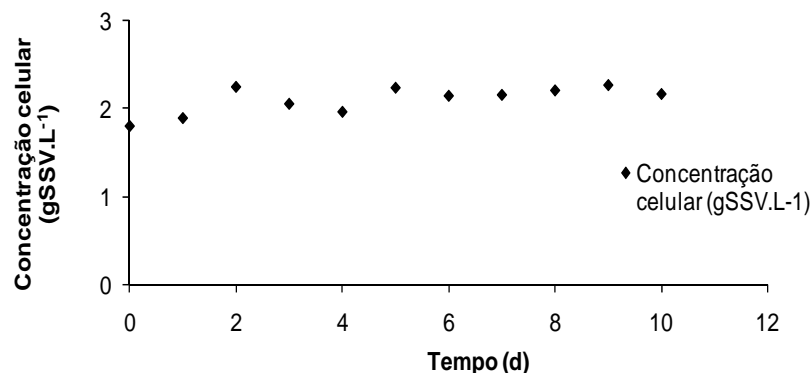


Figura 5.31: Variação da concentração celular durante a cinética de decaimento celular

Conforme a cinética de crescimento celular não foi possível estabelecer o coeficiente de decaimento celular, pelo mesmo motivo, indicando que a tendência anterior era devido à variação de amostral e que possivelmente o K_d deve ser relativamente baixo, não sendo perceptível para este tipo de metodologia.

5.5 Medidas de potencial redox na desnitrificação autotrófica via oxidação de tiosulfato

Neste estudo, obteve-se medidas de potencial com a finalidade de relacionar a variação dos substratos com o ORP. Os ensaios seguiram a metodologia descrita no item 4.2.2, pág. 51.

Nas Figuras 5.32 , 5.33 e 5.34, estão representadas as cinéticas nas condições de 100 mgS-S₂O₃⁻².L⁻¹, 300 mgS-S₂O₃⁻².L⁻¹ e 500 mgS-S₂O₃⁻².L⁻¹ respectivamente; mantida a relação S/N de 10/8 e concentração celular de 2 gSSV.L⁻¹.

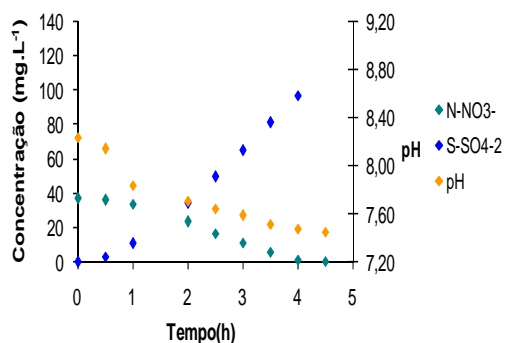


Figura 5.32: Cinética potencial redox 100 mg $S-S_2O_3^{2-}.L^{-1}$ (relação $S/N = 10/8$ e $X_0 = 2 \text{ gSSV}.L^{-1}$)

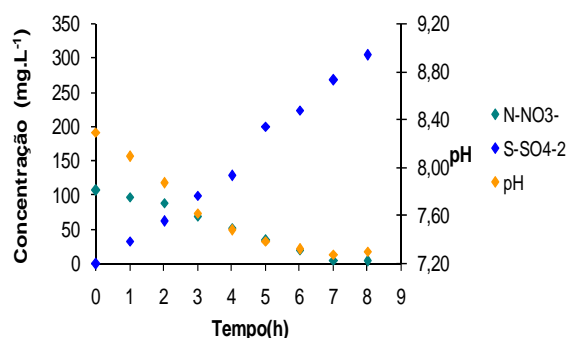


Figura 5.33: Cinética potencial redox 300 mg $S-S_2O_3^{2-}.L^{-1}$ (relação $S/N = 10/8$ e $X_0 = 2 \text{ gSSV}.L^{-1}$)

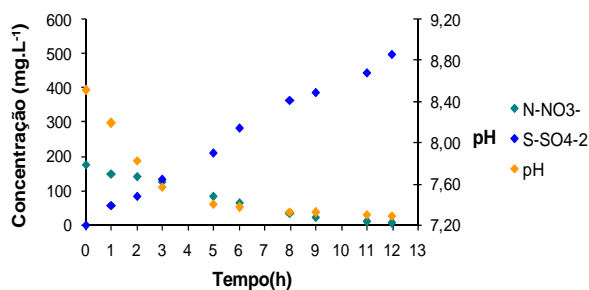


Figura 5.34: Cinética potencial redox 500 mg $S-S_2O_3^{2-}.L^{-1}$ (relação $S/N = 10/8$ e $X_0 = 2 \text{ gSSV}.L^{-1}$)

Observa-se nestas figuras que a tendência das cinéticas foi similar aos ensaios realizados em batelada, indicando que não houve inibição do processo mesmo atuando em um sistema aberto, com possibilidade de introdução de oxigênio. Valores de oxigênio dissolvido mantiveram-se inferiores a $1,5 \text{ mgO}_2.L^{-1}$ durante todas as cinéticas de medidas de potencial (Anexo, pág.143). Comparando-se as velocidades específicas em cada condição com as cinéticas realizadas nas mesmas concentrações nos ensaios em batelada, ocorreu uma variação apenas na condição de $100 \text{ mg } S-S_2O_3^{2-}.L^{-1}$, apresentando uma velocidade maior, conforme observa-se na Tabela 5.36. Estes valores de velocidade se aproximaram do estimado pelo modelo proposto no item 5.4.3, pág. 93, indicando que a atividade dos microrganismos está próxima da máxima.

Tabela 5.36: Velocidades específicas de consumo de nitrato e produção de tiosulfato nos ensaios cinéticos de medidas de potencial redox

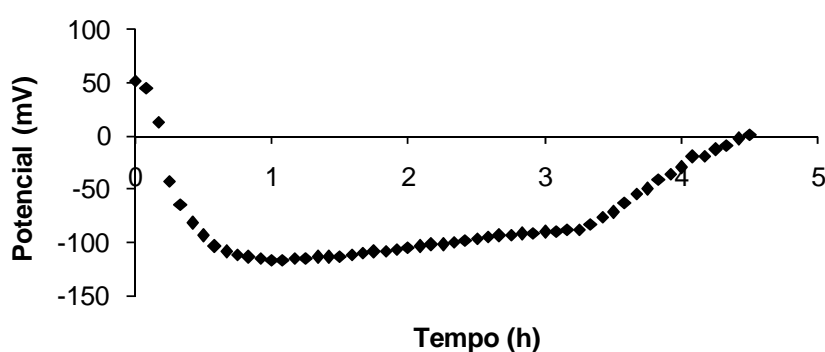
Concentração $\text{mg S-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$	Concentração $\text{mgN-NO}_3^{-} \cdot \text{L}^{-1}$	μ_{N} $\text{mgN-NO}_3^{-} \cdot (\text{gSSV} \cdot \text{h})^{-1}$	μ_{S} $\text{mgS-SO}_4^{-2} \cdot (\text{gSSV} \cdot \text{h})^{-1}$	$Y_{\text{N/S}}$ $\text{mgN-NO}_3^{-} \cdot (\text{mg S-SO}_4^{-2})^{-1}$
100	35	9,215	25,073	0,367
300	105	7,509	20,435	0,367
500	175	8,335	23,111	0,361

Em todos os ensaios realizados, a eficiência do processo esteve elevada, e para esta condição de cinética também foi ratificada, conforme apresentado na Tabela 5.37.

Tabela 5.37: Eficiência de remoção de nitrogênio e conversão de enxofre nos ensaios cinéticos de medidas de potencial redox

Concentração de Enxofre ($\text{mgS-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$)	Remoção de Nitrogênio (%)	Conversão de enxofre (%)
100	97,9	97,0
300	96,5	100,0
500	97,3	99,6

Nas Figuras 5.35, 5.36, e 5.37 observam-se a variação do potencial com o tempo para as referidas condições.

**Figura 5.35:** Variação do potencial com o tempo de ensaio cinético, na condição de $100 \text{ mg S-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$

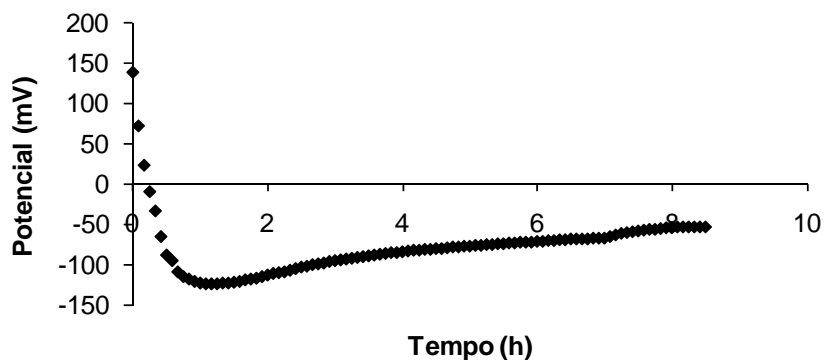


Figura 5.36: Variação do potencial com o tempo de ensaio cinético, na condição de 300 mg $S-S_2O_3^{2-}.L^{-1}$

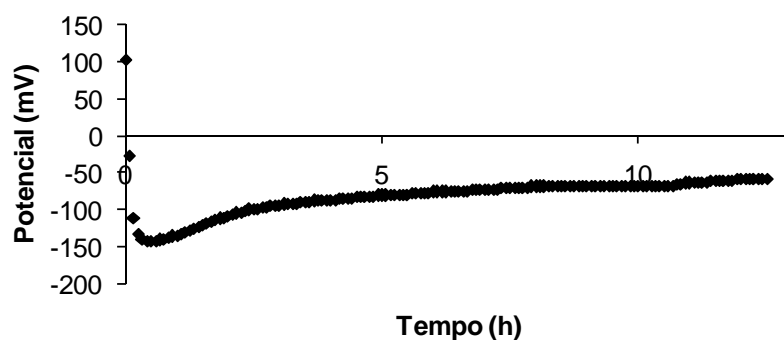


Figura 5.37: Variação do potencial com o tempo de ensaio cinético, na condição de 500 mg $S-S_2O_3^{2-}.L^{-1}$

Estas medidas de potencial foram realizadas a cada 5 minutos, durante toda a cinética, com o intuito de avaliar a variação deste ao longo do experimento. No início de cada cinética, a variação de potencial foi acentuada devido ao tempo necessário para o sensor entre em equilíbrio com o sistema. Entretanto é mais interessante analisar a variação do potencial com a variação do substrato. Pode-se comparar a relação potencial x $S-SO_4^{2-}$ observando-se a Figura 5.38, e a relação potencial x $N-NO_3^-$ na Figura 5.43.

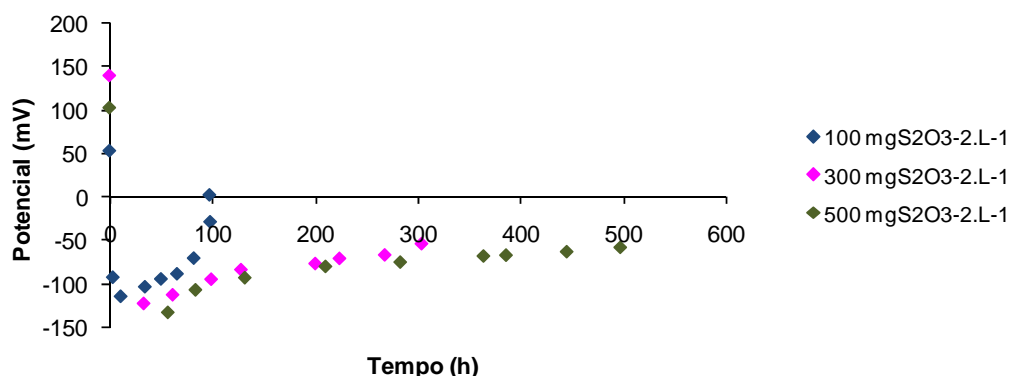


Figura 5.38: Variação do potencial redox com a variação da concentração de S-SO_4^{-2}

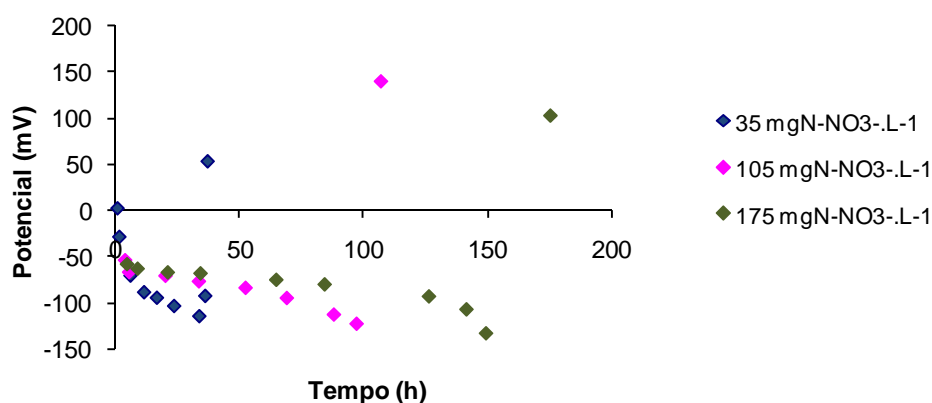


Figura 5.39: Variação do potencial redox com a variação da concentração de N-NO_3^-

Peddie *et al.* (1990) consideram o ORP um parâmetro ideal para medir as alterações das atividades da biomassa em um processo de digestão aeróbia de lodo, por ser uma medida sensível à variação do meio. E de fato isto ocorreu neste processo. A variação do potencial acompanhou o processo de desnitrificação autotrófica via oxidação de tiosulfato, indicando como o ORP pode ser utilizado como parâmetro de controle de processo. Em condições anaeróbias um valor de potencial redox típico é de -425 mV, e para este estudo observou-se uma faixa de -150 a 0 mV, e salienta-se que para as concentrações $300 \text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$ e $500 \text{ mgS-S}_2\text{O}_3^{-2} \cdot \text{L}^{-1}$ o término da desnitrificação ocorreu para um valor próximo de -60 mV. Estudos em outras concentrações são necessários, mas este valor pode ser um indicativo da desnitrificação total e ser utilizado como parâmetro de controle.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES

A desnitrificação autotrófica via integração do ciclo do enxofre é um processo relativamente recente, em fase de otimização e de grande aplicação para o setor de tratamento de efluentes. É considerado um processo que possibilita a recuperação de enxofre na forma de enxofre elementar atribuindo valor agregado ao resíduo.

A viabilidade deste estudo foi limitada pelas metodologias analíticas que, devido às interferências analíticas, dificultaram a detecção dos compostos durante a remoção autotrófica de nitrogênio com formação de enxofre elementar. Porém, foi possível estabelecer o processo de desnitrificação via oxidação do tiosulfato, propiciando o entendimento do fenômeno, identificando os fatores intervenientes no processo além de prover uma biomassa adaptada, que pode servir de inóculo para pesquisas futuras.

A operação do reator anaeróbio foi essencial para o fornecimento de uma biomassa capaz de estabelecer a conversão desejada, mostrando alta eficiência de remoção de nitrogênio, em média 90%, e total conversão de tiosulfato. Um dos fatores fundamentais para evitar a inibição dos microrganismos é a adição de bicarbonato como fonte de carbono e corretivo de pH. Através do balanço de massa de nitrogênio e enxofre no reator ficou evidente a possibilidade de se reduzir o tempo de retenção hidráulico. No entanto, o objetivo do reator era de servir como fonte de inóculo para os ensaios cinéticos que se seguiram.

Os ensaios cinéticos de desnitrificação definiram as melhores condições para se realizar os ensaios que permitiram a obtenção dos parâmetros cinéticos da referida cultura. Experimentos estes que indicaram a concentração celular de 2g SSV.L^{-1} , a relação molar S/N de 10/8 como ideais para se determinar as atividades específicas de consumo de nitrato e formação de sulfato. Utilizando-se destes fatores, determinaram-se as velocidades específicas máximas de consumo de nitrato ($\mu_N=8,752\text{ mgN-NO}_3^-\cdot(\text{gSSV.h})^{-1}$) e de formação de sulfato ($\mu_S=28,163\text{mgS-SO}_4^{-2}\cdot(\text{gSSV.h})^{-1}$); e, escolheu-se o modelo de Monod para se estimar os parâmetros cinéticos K_S ($100,53\text{ mg S-S}_2\text{O}_3^{-2}\cdot\text{L}^{-1}$) e K_N ($29,96\text{ mg N-NO}_3^-\cdot\text{L}^{-1}$).

Atualmente, o uso do potencial redox como ferramenta de controle operacional é importante e está em fase de pesquisas. No âmbito dos processos de remoção de nitrogênio via oxidação de enxofre pode ser considerada essencial para se avaliar o término do fenômeno e ser um indicativo da formação de enxofre elementar.

7. SUGESTÕES

- Definir metodologias adequadas para a realização da desnitrificação autotrófica via oxidação de enxofre, com possibilidade de formação de enxofre elementar;
- Estabelecer o processo de desnitrificação utilizando o sulfeto como doador de elétrons;
- Realizar ensaios cinéticos em diferentes relações S^{-2}/NO_3^{-} , verificando qual a melhor relação para a produção de enxofre elementar;
- Determinar o efeito da inibição do sulfeto para os microrganismos, propondo modelos cinéticos;
- Estabelecer esse processo de desnitrificação autotrófica como pós-tratamento de um reator sulfetogênico;
- Introduzir no estudo efluente industrial avaliando a eficiência do processo e sua viabilidade em larga escala.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHN, YOUNG-HO. “Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review”. *Process Biochemistry*. Vol. 41, p.1709–1721, 2006.
- AHONEN, L.; TUOVINEN, O. H.. “Kinetics of Sulfur Oxidation at Suboptimal Temperatures”. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 56, N° 2, p.560- 562, 1990.
- ALVAREZ, R. S., CARDOSO, R. B.; SALAZAR, M; GÓMEZ, J., FLORES, E. R.; FIELD, J. A.. “Chemolithotrophic denitrification with elemental sulfur for groundwater treatment”. *Water Research*, Vol. 41, p.1253 –1262, 2007.
- ANTHONISEN; A.C; LOEHR, R.C.; PRAKASAM, T.B.S.; SRINATH, E.G.. “Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid”. *J Water Pollut Control*. Vol. 48, N° 5, p. 835-852, 1976.
- APHA, AWWA, WEF..“Standard methods for the examination of water and wastewater”. 19th. edn. American Public Health Association. Washington, DC, 1995.
- ARP, D. J. & STEIN; L. Y.. “Metabolism of Inorganic N Compounds by Ammonia-Oxidizing Bacteria”. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. Vol.38, p.471–495, 2003.
- ATLAS, R. M. E BARTHA, R.. “Ecologia microbiana e microbiologia ambiental”. 3° Edição. Madri: Pearson Education S.A., 2002.
- BARNES, D.; BLISS, P.J.. “Biological control of nitrogen in wastewater treatment”. 1° Edição. Londres. E.& F. N. Spon, 1983.

- BASKARAN, V.; NEMATİ, M.. “Anaerobic reduction of sulfate in immobilized cell bioreactors, using a microbial culture originated from an oil reservoir”. Biochemical Engineering Journal. Vol. 31, p.148–159, 2006.
- BATCHELOR, B., LAWRENCE, A.W.,. “Autotrophic denitrification using elemental sulfur”. J. Water Pollut. Control Fed. Vol. 50, Nº 8, p.1986–2001, 1978
- BELLER , H. R.; CHAIN, P. S. G.; LETAIN, T. E.; CHAKICHERLA, A.; LARIMER, F.W.; RICHARDSON, P. M.; COLEMAN, M. A.; WOOD, A. P.; KELLY, D. P.. “The Genome Sequence of the Obligately Chemolithoautotrophic, Facultatively Anaerobic Bacterium *Thiobacillus denitrificans*”. Journal of Bacteriology. Vol. 188, Nº4, p.1473–1488, 2006. a
- BELLER , H. R.; CHAIN, P. S. G.; LETAIN, T. E.; CHAKICHERLA, A.; K. S. R.; LEGLER, T. C.; COLEMAN, M. A.. “Whole-Genome Transcriptional Analysis of Chemolithoautotrophic Thiosulfate Oxidation by *Thiobacillus denitrificans* under Aerobic versus Denitrifying Conditions”. Journal of Bacteriology.Vol. 188, Nº. 19 , p.7005–7015, 2006. b
- BERNET, N.; SANCHEZ, O.; CESBRON, D.; STEYER, J.-P.; DELGENÈS, J.-P.. “Modeling and control of nitrite accumulation in a nitrifying biofilm reactor”. Biochemical Engineering Journal. Vol. 24, p.173–183, 2005.
- BOCK, E.; SCHMIDT, I.; STU VEN, R.; ZART, D. “Nitrogen loss caused by denitrifying *Nitrosomonas* cells using ammonium or hydrogen as electron donors and nitrite as electron acceptor”. Arch Microbiol. Vol.163, p.16–20, 1995.
- BOSHOF, G.; DUNCAN, J.; ROSE, P.D.. “Tannery effluent as a carbon source for biological sulphate reduction”. Water Research. Vol. 38, p.2651–2658, 2004.

- BOTHE, H; JOST, G., SCHLOTER, M.; WARD, B. B.; WITZEL, K-P. "Molecular analysis of ammonia oxidation and denitrification in natural environments". FEMS Microbiology Reviews. Vol. 24, p.673-690, 2000.
- BOUGARD, D.; BERNET, N.; CHÈNEBY,D.; DELGENÈS,J.-P.. "Nitrification of a high-strength wastewater in an inverse turbulent bed reactor: Effect of temperature on nitrite accumulation". Process Biochemistry. Vol. 41, p.106–113, 2006.
- BROCK, T. D.; MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J.. "Biology of microorganisms". 8º Edição. New Jersey. Prentice Hall, 1997.
- CAMPOS, J.L.; FERNANDEZ, J.M.G.; MÉNDEZ, R.; LEMA, J.M.. "Nitrification at high ammonia loading rates in an activated sludge unit". Bioresource Technology. Vol. 68, p.141-148, 1999.
- CARRERA, J.; BAEZA, J.A.; VICENT, T.; LAFUENTE, J.. "Biological nitrogen removal of high-strength ammonium industrial wastewater with two-sludge system". Water Research.Vol. 37, p.4211–4221, 2003.
- CATALDO, D. A.; HAROON, M.; SCHRADER, L. E.; YOUNGS, V. L. "Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid". Comum Soil Sci Plant Anal. Vol 6, p.71-80, 1975.
- CHAPMAN, B. D.; SCHLEICHER, M.; BEUGER, A.; GOSTOMSKI, P.; THIELE, J.H.. "Improved methods for the cultivation of the chemolithoautotrophic bacterium *Nitrosomonas europaea*". Journal of Microbiological Methods. Vol. 65, p.96–106, 2006.
- CHUANG, H.-P.; OHASHI, A; IMACHIB,H.; TANDUKAR, M.; HARADA H. "Effective partial nitrification to nitrite by down-flow hanging sponge reactor under limited oxygen condition". Water Research. Vol. 41, p.95 – 302, 2007.

- CLAUS, G., KUTZNER, H.J. “Physiology and kinetics of autotrophic denitrification by *Thiobacillus denitrificans*”. Appl. Microbiol. Biotechnol. Vol. 22, p.283–288, 1985.
- CORRAL, A. M.; GONZÁLEZ, F.; CAMPOS, J.L.; MÉNDEZ, R.. “Partial nitrification in a SHARON reactor in the presence of salts and organic carbon compounds”. Process Biochemistry. Vol. 40, p.3109–3118, 2005.
- DA SILVA, A. J.. “Biodessulfatação com posterior oxidação parcial do sulfeto em reatores operados em bateladas seqüências”. São Carlos, SP, 2005.
- DALSGAARD, T. & BAK, F.. “Effect of Acetylene on Nitrous Oxide Reduction and Sulfide Oxidation in Batch and Gradient Cultures of *Thiobacillus denitrificans*” Applied and Environmental Microbiology. Vol. 58, No. 5, p.1601-1608, 1992.
- DAVYDOV, A.A.; MARSHNEVA, V. I.; SHEPOTKO, M. L.. “Metal oxides in hydrogen sulfide oxidation by oxygen and sulfur dioxide I. The comparison study of the catalytic activity. Mechanism of the interactions between H₂S and SO₂ on some oxides”. Applied Catalysis A: General . Vol. 244, p.93–100. 2003.
- DE SMUL, A.; GOETHALS, L.; VERSTRAETE, W.. “Effect of COD to sulphate ratio and temperature in expanded-granular-sludge-blanket reactors for sulphate reduction”. Process Biochemistry. Vol. 34, p. 407–416, 1999.
- DELWICHE, C. C. & FINSTEIN, M. S.. “Carbon and Energy Sources for the Nitrifying Autotroph *Nitrobacter*. Journal of Bacteriology. Vol. 90, N° 1, 1965.
- DIRETIVA 89/519/CEE da Comissão de 1º de agosto de 1989 (Relativa à aprox. das legislações dos Estados-membros respeitantes aos métodos de amostragem e análise dos adubos); publicada no diário oficial N° 265 de 12/09/1989 p. 0030-0047.

- DONG, Z. & SUN, T.. “A potential new process for improving nitrogen removal in constructed wetlands—Promoting coexistence of partial-nitrification and Anammox”. *Ecological Engineering* Vol.31, p.69–78, 2007.
- FENG, Y.-J.; TSENG, S.-K.; HSIA, T.-H.; HO C.-M.; CHOU W.-P.. “Partial Nitrification of Ammonium-Rich Wastewater as Pretreatment for Anaerobic Ammonium Oxidation (Anammox) Using Membrane Aeration Bioreactor”. *Journal of bioscience and bioengineering*. Vol. 104, N° 3, p.182–187, 2007.
- GADEKAR, S.; NEMAT, M.; HILL, G.A.. “Batch and continuous biooxidation of sulphide by *Thiomicrospira* sp. CVO: Reaction kinetics and stoichiometry”. *Water Research*. Vol. 40, p.2436 – 2446, 2006.
- GLOMBITZA, F. “Treatment of acid lignite mine flooding water by means of microbial sulfate reduction”. *Waste Management*. Vol. 21, p.197-203, 2001.
- GUT, L.. “Assessment of a partial nitrification/anammox system for nitrogen removal”. TRITA-LWR Licentiate Thesis 2034, Sweden, 2006.
- HANSEN, T. A. “Physiology of sulphate-reducing bacteria”. *Microbiological Sciences*. Vol.5, p.81–84, 1988.
- HAO, X.; HEIJNEN, J. J.; VAN LOOSDRECHT, M. C.M.. “Model-based evaluation of temperature and inflow variations on a partial nitrification–anammox biofilm process”. *Water Research*. Vol. 36, p.4839–4849, 2002.
- HENRY, Y.; DUCROCQ, C.; DRAPIER, J.C; SERVENT, D.; PELLAT, C.; GUISSANI, A.. “Nitric oxide, a biological effector. Electron paramagnetic resonance detection of nitrosyl-iron-protein complexes in whole cells”. *Eur. Biophys. J.*. Vol. 20, p.1–15, 1991.
- HENZE, M.; HARREMOES, P.; JANSEN, J. C.; ARVIN, E.. “Wastewater treatment – Biological and chemical process”. Springer Verlag, 2a Edição. Alemanha, 1997.

- HOA, T.T.H.; LIAMLEAM, W.; ANNACHHATRE, A.P.. “Lead removal through biological sulfate reduction process”. *Bioresource Technology*. Vol. 98, p. 2538–2548, 2007.
- HOMMES, N. G.; SOTO, L. A. S.; ARP, D. J.. “Chemolithoorganotrophic Growth of *Nitrosomonas europaea* on Fructose”. *Journal of Bacteriology*. Vol. 185, p.6809–6814, N° 23, 2003.
- HOOPER, A. B. & TERRY, K. R.. Specific Inhibitors of Ammonia Oxidation in *Nitrosomonas*. *Journal of Bacteriology*. Vol. 115, p. 480-485, N° 2, 1973.
- HYMAN, M R.; KIM, C. Y., ARP, D. J.. “Inhibition of Ammonia Monooxygenase in *Nitrosomonas europaea* by Carbon Disulfide”. *Journal of Bacteriology*, Vol. 172, N° 9, p. 4775-4782, 1990.
- IAMAMOTO, C. Y. “Remoção de nitrogênio de águas residuárias com elevada concentração de nitrogênio amoniacal em reator contendo biomassa em suspensão operado em bateladas seqüenciais e sob aeração intermitente”. São Carlos: tese de doutorado, Escola de Engenharia de São Carlos da USP, 2006.
- INGVORSEN, K.; DE NIELSEN, M. Y.; JOULIAN, C.. “Kinetics of bacterial sulfate reduction in an activated sludge plant”. *FEMS Microbiology Ecology*. Vol. 46, p.129-137, 2003.
- JANSEN, A. J.H.; LETTINGA, G.; KEIZER, A DE.”Removal of hydrogen sulphide from wastewater and waste gases by biological conversion to elemental sulphur – colloidal and interfacial aspects of biologically produced sulphur particles”. *Colloids and Surfaces, A: Physicochemical and Engineering Aspects*. Vol. 151, p.389-397,1999.
- JANSSEN, A. J. H.; MEIJER, S.; BONTSEMA, J.; LETTINGA, G.. “Application of the redox potential for controlling a sulfide oxidizing bioreactor”. *Biotechnology and Bioengineering*. Vol. 60, N° 2, p.147-155, 1998.

- JETTEN, M. S. M.; VAN DONGEN, L. G. J. M.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.. “The Combined Sharon/Anammox Process”. Stowa: Foundation for Applied Water Research. IWA Publishing. London. 2001.
- JETTEN, M.S.M.; STROUS, M.; VAN DE PAS-SCHOONEN, K. T.; SCHALK, J.; VAN DONGEN, U. G.J.M.; VAN DE GRAAF, A. A.; LOGEMANN, S.; MUYZER, G.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M.; KUENEN, J. G.. “The anaerobic oxidation of ammonium”. FEMS Microbiology Reviews. Vol. 22, p.421-437, 1999.
- KALYUZHNYIA, S.; GLADCHENKOA, M.; MULDERB, A; VERSPRILLEC, B.. “Deamox — New biological nitrogen removal process based on anaerobic ammonia oxidation coupled to sulphide-driven conversion of nitrate into nitrite”. Water Research. Vol. 40, p.3637 – 3645, 2006.
- KAMPSCHREUR, M.J.; TAN, N.C.G.; PICIOREANU, C.; JETTEN, M.S.M.; SCHMIDT, I.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M.. Role of nitrogen oxides in the metabolism of ammonia-oxidizing bacteria; The 11th Nitrogen Cycle Meeting 2005.
- KEENER, W. K. & ARP D. J.. “Kinetic Studies of Ammonia Monooxygenase Inhibition in *Nitrosomonas europaea* by Hydrocarbons and Halogenated Hydrocarbons in an Optimized Whole-Cell Assay”. Applied and Environmental Microbiology. Vol .59, N°8, p.2501-2510, 1993.
- KELLY, D. P.& WOOD, A. P..”Confirmation of *Thiobacillus denitrificans* as a species of the genus *Thiobacillus*, in the subclass of the Proteobacteria, with strain NCIMB 9548 as the type strain”. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. Vol. 50, p.547–550, 2000.
- KIM, J. K.; PARK, K. J.; CHO, K. S.; NAM, S.-W.; PARK T.-J.; BAJPAI, R.. “Aerobic nitrification–denitrification by heterotrophic *Bacillus* strains”. Bioresource Technology. Vol. 96, p.1897–1906, 2005.

- KIMURA, A. K.; NAKAMURA, M.; WATANABE, Y. "Nitrate removal by a combination of elemental sulfur-based denitrification and membrane filtration". *Water Research*. Vol. 36, p.1758–1766, 2002.
- KLEIJAN, W. "Biologically produced sulfur particles and polysulfide ions". Tese de doutorado, Wageningen Universiteit, 2005.
- KODAMA, Y. & WATANABE, K. "Isolation and Characterization of a Sulfur-Oxidizing Chemolithotroph Growing on Crude Oil under Anaerobic Conditions". *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 69, No. 1, p.107–112, 2003.
- KOENIG, A.; LIU, T. Z., L.-H.; FANG, H. H.P.. "Microbial community and biochemistry process in autotrophic denitrifying biofilm". *Chemosphere*. Vol. 58, p.1041–1047, 2005.
- KOREN, D.W.; GOULD, W.D.; BÉDARD, P.. "Biological removal of ammonia and nitrate from simulated mine and mill effluents". *Hydrometallurgy*. Vol. 56, p.127–144, 2000.
- KRISHNAKUMAR, B.; MAJUMDAR, S.; MANILAL, V.B.; HARIDAS, A.. "Treatment of sulphide containing wastewater with sulphur recovery in a novel reverse fluidized loop reactor (RFLR)". *Water Research*. Vol. 39, p.639–647, 2005.
- KRUMMEL, A. & H. HARMS. "Effect of organic matter on growth and cell yield of ammonia-oxidizing bacteria". *Arch. Microbiol.* Vol.133, p.50–54, 1982.
- KUAI, L. & VERSTRAETE, W.. "Ammonium removal by the oxygen-limited autotrophic nitrification-denitrification system". *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 64, N°11, p. 4500-4506, 1998.

- KUO, W.-C.; SHU, T-Y. "Biological pre-treatment of wastewater containing sulfate using anaerobic immobilized cells". *Journal of Hazardous Materials B*. Vol.113, p.147–155, 2004.
- LENS, P.N.L.; VISSER, A.; JANSSEN, A.J.H.; HULSHOFF POL, L.W.; LETTINGA, G.. "Biotechnological treatment of sulfate-rich wastewaters". *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. Vol. 28, N° 1, p. 41-88, 1998.
- LI, B.; IRVIN, S.. "The comparison of alkalinity and ORP as indicators for nitrification and denitrification in a sequencing batch reactor (SBR)". *Biochemical Engineering Journal*. Vol. 34, p.248–255, 2007.
- LIU, L.H.; KOENIG, A.. "Use of limestone for pH control in autotrophic denitrification: batch experiments. *Process Biochemistry*. Vol. 37, p.885–893, 2002.
- MA, Y.-L.; YANG B.-L.; ZHAO, J.-L.. "Removal of H₂S by *Thiobacillus denitrificans* immobilized on different matrices". *Bioresource Technology*. Vol. 97, p.2041–2046, 2006.
- MAHMOOD, Q.; ZHENG, P.; CAI, J.; WU, D.; HU, B., LI J.. "Anoxic sulfide biooxidation using nitrite as electron acceptor". *Journal of Hazardous Materials*. Vol. 147, p.249–256, 2007.
- MENERT, A.; PAALME, V.; JUHKAM, J.; VILU, R.. "Characterization of sulfate-reducing bacteria in yeast industry waste by microcalorimetry and PCR amplification". *Thermochimica Acta*. Vol. 420, p.89–98, 2004.
- MITTAL, G. S.. "Treatment of wastewater from abattoirs before land application - a review". *Bioresource Technology*. Vol. 97, p.1119–1135, 2006.

- MOON, H.S.; AHN, K.-H.; LEE, S.; NAM, K.; KIM, J.Y.. "Use of autotrophic sulfur-oxidizers to remove nitrate from bank filtrate in a permeable reactive barrier system". *Environmental Pollution*. Vol. 129, p.499–507, 2004.
- MOOSA, S.; NEMAT, M.; HARRISON, S. T. L.. "A kinetic study on anaerobic reduction of sulphate, Part I: Effect of sulphate concentration". *Chemical Engineering Science*. Vol. 57 p.2773 – 2780, 2002.
- OH, S.E.; YOO, Y.B.; YOUNG, J.C.; KIM, I.S.. "Effect of organics on sulfur-utilizing autotrophic denitrification under mixotrophic conditions". *Journal of Biotechnology*. Vol. 92, p.1–8, 2001.
- PEDDIE, C.; MAVINIC, D.S.; JENKINS, J.. "Use of ORP for Monitoring and Control of Aerobic Sludge Digestion". *J. Envir. Engrg.*, Vol. 116, N° 3, p. 461-471, 1990.
- PENG, Y.Z.; MA, Y.; WANG, S.Y.. "Improving nitrogen removal using on-line sensors in the A/O process". *Biochemical Engineering Journal*. Vol. 31, p.48–55, 2006.
- POLANCO, F.F.; POLANCO, F.M.; FERNANDEZ, N.; URUEÑA, M.A.; GARCIA, P. A., VILLAVARDE, S.. "Combining the biological nitrogen and sulfur cycles in anaerobic condition". *Water Sci. Technol.* Vol. 44, N° 8, p.77-84, 2001.
- POLLICE, A.; TANDOI, V.; LESTINGI, C.. "Influence of aeration and sludge retention time on ammonium oxidation to nitrite and nitrate". *Water Research*, Vol. 36, p. 2541-2546, 2002.
- RAMOS, A.F.; GÓMEZ, M.A.; HONTORIA, E.; LÓPEZ, J. G.. "Biological nitrogen and phenol removal from saline industrial wastewater by submerged fixed-film reactor". *Journal of Hazardous Materials*. Vol.142, p.175–183, 2007.
- ROGER M. F.; ROCA, J.A. M.; ALEIXANDRE, M.V. G.; PIÁ, A. B.; URIBE, B. C.; CLAR, A. I.. "Reuse of tannery wastewaters by combination of ultrafiltration and

reverse osmosis after a conventional physical-chemical treatment”. *Desalination*. Vol. 204, p.219–226, 2007.

RUIZ, G.; JEISON, D.; RUBILAR, O.; CIUDAD, G.; CHAMY, R.. “Nitrification–denitrification via nitrite accumulation for nitrogen removal from wastewaters”. *Bioresource Technology*. Vol. 97, p.330–335, 2006.

SANTANA, F. B..”Eliminação autotrófica de nitrogênio via integração dos ciclos do nitrogênio e do enxofre em reator SBR”. Florianópolis: Tese de Doutorado-UFSC, 2006.

SANTANA, F. B.. “Remoção de enxofre”. In: Tratamento biológico de águas residuárias.. Paper Prist. Paper Prist. 1ª Edição. Florianópolis, 2007.

SCHMIDELL, W. & Reginatto,V.S. “Remoção de nitrogênio”. In: Tratamento biológico de águas residuárias. Paper Prist. 1ª Edição. Florianópolis, 2007.

SCHMIDT, I.; BOCK, E.; JETTEN, M. S. M.. “Ammonia oxidation by *Nitrosomonas eutropha* with NO₂ as oxidant is not inhibited by acetylene”. *Microbiology*. Vol.147, p.2247–2253, 2001.

SCHMIDT, I.; HERMELINK, C.; VAN DE PAS-SCHOONEN, K.; STROUS, M.; OP DEN CAMP, H. J.; KUENEN, J.G.; JETTEN, M. S. M.. “Anaerobic Ammonia Oxidation in the Presence of Nitrogen Oxides (NO_x) by Two Different Lithotrophs”. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 68, No. 11, p. 5351–5357, 2002.

SCHMIDT, I.; LOOK, C.; BOCK, E.; JETTEN, M. S. M.. “Ammonium and hydroxylamine uptake and accumulation in *Nitrosomonas*”. *Microbiology*. Vol. 150, p.1405–1412, 2004.

SCHMIDT, I.; SLIEKERS, O.; SCHMID, M.; BOCK, E.; FUERST, J.; KUENEN, J.G.; JETTEN, MIKE S.M.; STROUS, M.. “New concepts of microbial treatment processes

for the nitrogen removal in wastewater”. FEMS Microbiology Reviews. Vol. 27, p. 481-492, 2003.

SIPMA, J.; LENS, P.; VIEIRA, A.; MIRON, Y.; VAN LIER, J.B.; POL, L.W. H.; LETTINGA, G.. “Thermophilic sulphate reduction in upflow anaerobic sludge bed reactors under acidifying conditions”. Process Biochemistry. Vol. 35, p.509–522, 1999.

SLIEKERS, A. O.; THIRD, K.A.; ABMA, W.; KUENEN, J.G.; JETTEN, M.S.M... “Canon and Anammox in a gas-lift reactor”. FEMS Microbiology Letters. Vol. 218, p.339-344, 2003.

SMITH, A. J. & D. S. HOARE.. “Specialist phototrophs, lithotrophs, and methylotrophs: a unity among a diversity of prokaryotes?”. Bacteriol. Rev. Vol. 41, p.419–448, 1977.

SOARES, H. M. & HIRATA, Y.. “Geração e caracterização das águas residuárias”. In: Tratamento biológico de águas residuárias. Paper Prist. 1ª Edição. Florianópolis, 2007.

SOTO, O.; ASPÉ, E.; ROECKEL, M.. “Kinetics of cross-inhibited denitrification of a high load wastewater”. Enzyme and Microbial Technology. Vol. 40, p. 1627–1634, 2007.

STROUS, M.; KUENEN, J.G.; JETTEN, M.S.M.. “Key Physiology of Anaerobic Ammonium Oxidation”. Applied and Environmental Microbiology. Vol.50, p. 589-596. 1999.

STUBNER, S.. “Quantification of Gram-negative sulphate-reducing bacteria in rice field soil by 16S rRNA gene-targeted real-time PCR”. Journal of Microbiological Methods. Vol.57, p.219– 230, 2004.

TAKASHIMA, T.; NISHIKI, T.; KONISHI, Y.. “Anaerobic Oxidation of Dissolved Hydrogen Sulfide in Continuous Culture of the Phototrophic Bacterium *Prosthecochloris aestuarii*”. Journal of Bioscience and Bioengineering. Vol. 89, Nº 3, p.247-251, 2000.

- TAPPE, W.; TOMASCHEWSKI, C.; RITTERSHAUS, S.; GROENEWEG, J.. "Cultivation of nitrifying bacteria in the retentostat, a simple fermenter with internal biomass retention". *FEMS Microbiol. Ecol.* Vol.19, p. 47– 52, 1996.
- THIRD, K. A.; SLIEKERS, A. O.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M.. "The Canon System (Completely Autotrophic Nitrogen-removal Over Nitrite) under Ammonium Limitation: Interaction and Competition between Three Groups of Bacteria System". *Appl. Microbiol.* Vol.24, p.588–596, 2001.
- VAIOPOULOU, E.; MELIDIS, P.; AIVASIDIS, A.. "Sulfide removal in wastewater from petrochemical industries by autotrophic denitrification". *Water Research.* Vol. 39, p. 4101–4109, 2005.
- VAN DER STAR, W. R.L.; ABMA, W. R.; BLOMMERS, D.; MULDER, J.-W.; TOKUTOMI, T.; STROUS, M.; PICIOREANU, C.; VAN LOOSDRECHT, M. C.M.. "Startup of reactors for anoxic ammonium oxidation: Experiences from the first full-scale anammox reactor in Rotterdam". *Water Research.* Vol. 41, p.4149 – 4163, 2007.
- VAN DONGEN, U; JETTEN, M.S.M.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M.. The Sharon-Anammox process for treatment of ammonium rich wastewater. *Water Sci Technol.* Vol. 44, p.153-160, 2001.
- VAN KEMPEN, R.; MULDER, J.W.; UIJTERLLNDE C..A.. "Overview: Full scale experience of the SHARON process for treatment of rejection water of digested sludge dewatering". *Water Sci. Technol.* Vol. 44, p. 145-152, 2001.
- VASILIADOU, I.A.; PAVLOU, S.; VAYENAS, D.V..A "Kinetic study of hydrogenotrophic denitrification". *Process Biochemistry.* Vol. 41, p.1401–1408, 2006.
- VERSTRAETE, W.; PHILIPS, S.. "Nitrification-denitrification processes and technologies in new contexts". *Environmental Pollution.* Vol. 102, Sl, p.717-726, 1998.

- VISSCHER, P. T. & TAYLOR B. F.. “A New Mechanism for the Aerobic Catabolism of Dimethyl Sulfide”. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 59, N° 11, p.3784-3789, 1993.
- VOGEL, A. I.. *Análise Química quantitativa*. 5° Edição. Rio de Janeiro. LTC,1989.
- VOGEL, A. I.. *Química analítica qualitativa*. 5° Edição. São Paulo. Mestre Jou,1981.
- VOLCKE, E.I.P.; LOCCUFIER, M.; VANROLLEGHEM , P.A.; NOLDUS, E.J.L.. “Existence, uniqueness and stability of the equilibrium points of a Sharon bioreactor model”. *Journal of Process Control*. Vol. 16, p.1003–1012, 2006.
- WANG , Z. & BANKS, C.J..”Treatment of a high-strength sulphate-rich alkaline leachate using an anaerobic filter”. *Waste Management*. Vol. 27, p.359–366, 2007.
- WANG, A.; DU, D.; REN, N.; VAN GROENESTIJN, J. W.. “An innovative process of simultaneous desulfurization and denitrification by *Thiobacillus denitrificans*”. *Journal of Environmental Science and Health*. Vol. 40, N° 10, p.1939-1949, 2005.
- WINDEY, K.; DE BO,I.; VERSTRAETE, W.. “Oxygen-limited autotrophic nitrification–denitrification (OLAND) in a rotating biological contactor treating high-salinity wastewater”. *Water Research*. Vol. 39, p. 4512–4520, 2005.
- WRAGE, N; VELTHOLF, G.L.; VAN BEUSICHEM, M.L.;OENEMA, O.. “Role of nitrifier denitrification in the production of nitrous oxide”. *Soil biology e biochemistry*. Vol. 33, p.1723-1732, 2001.
- ZAGURY, G. J.; KULNIEKS, V. I.; NECULITA, C. M.. “Characterization and reactivity assessment of organic substrates for sulphate-reducing bacteria in acid mine drainage treatment”. *Chemosphere*. Vol. 64, p.944–954, 2006.

ZDRADEK, C. P..”Seleção de linhagens oxidadoras de amônio e remoção de nitrogênio via nitrito em reator descontínuo alimentado (SBR), sob condições de limitação de oxigênio”. Florianópolis: tese de doutorado, UFSC, 2005.

ZENG, H.; ZHANG, T. C.. Evaluation of kinetic parameters of a sulfur–limestone autotrophic denitrification biofilm process. Water Research. Vol. 39, p.4941–4952, 2005.

9. ANEXOS

9.1 Cinética Química Aeróbia (abiótica)

Tempo (H)	pH	SO ₄ ⁻²	S ₂ O ₃ ⁻²
0	9,00	Nd	100,82
1	9,01	Nd	99,87
3	9,00	Nd	98,07
5	9,02	Nd	98,07
7	9,00	Nd	100,82
21	8,97	Nd	99,87

9.2 Cinética Química Anaeróbia (abiótica)

Tempo (H)	pH	SO ₄ ⁻²	S ₂ O ₃ ⁻²
0	9,00	Nd	101,77
1	9,01	Nd	100,82
3	9,00	Nd	99,87
5	9,02	Nd	100,82
7	9,00	Nd	100,82
23	8,97	Nd	101,77

9.3 Reator contínuo

Tempo	N-NH ₄ ⁺ (mgL ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mgL ⁻¹)	S-SO ₄ ⁻² (mgL ⁻¹)	pH	N-NO ₃ ⁻ entrada (mgL ⁻¹)	S-S ₂ O ₃ ⁻² entrada (mgL ⁻¹)	Conversão de N (%)	Conversão de S (%)	Razão S/N entrada
0	8,23	1,46	11,04	6,97	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3	15,23	8,12	54,89	7,99	32,36	97,00	74,90	56,59	3,00
6	12,68	0,20	76,02	7,98	34,23	97,00	99,41	78,37	2,83
7	18,60	1,55	74,54	7,89	32,65	97,00	95,24	76,84	2,97
8	14,15	2,63	79,16	7,96	33,37	97,00	92,11	81,61	2,91
12	13,67	0,65	98,14	8,08	41,43	97,00	98,42	101,17	2,34
13	13,67	2,18	104,51	8,11	42,58	97,00	94,87	107,74	2,28
14	14,26	2,45	109,46	8,27	41,29	97,00	94,06	112,84	2,35
15	13,74	0,74	115,40	8,19	37,69	97,00	98,03	118,97	2,57
18	9,04	4,10	112,10	8,23	37,97	96,00	89,20	116,77	2,53
19	8,43	4,86	111,44	8,30	42,15	96,00	88,46	116,08	2,28
20	6,17	6,46	88,98	8,30	39,99	96,00	83,84	92,69	2,40
21	6,51	6,18	112,24	8,31	54,53	96,00	88,66	116,91	1,76
22	6,30	7,30	113,53	8,37	39,13	96,00	81,35	118,26	2,45
25	9,85	4,73	108,04	8,23	36,25	96,00	86,96	112,54	2,65
26	4,57	6,11	152,78	8,25	117,25	291,00	94,79	52,50	2,48
27	4,25	6,95	156,01	8,09	118,02	291,00	94,11	53,61	2,47
28	3,25	8,82	227,06	8,06	118,40	291,00	92,55	78,03	2,46
29	2,69	9,17	244,50	8,06	117,66	291,00	92,21	84,02	2,47
32	2,92	10,21	294,88	8,03	116,53	300,00	91,24	98,29	2,57
33	3,14	10,64	299,40	8,01	109,62	300,00	90,30	99,80	2,74
34	2,96	13,98	293,59	8,03	110,07	300,00	87,30	97,86	2,73
35	3,49	16,96	295,52	7,98	121,35	300,00	86,03	98,51	2,47
36	1,57	19,21	340,74	8,04	115,48	300,00	83,36	113,58	2,60
39	0,55	7,84	333,80	8,03	117,29	300,00	93,32	111,27	2,56
40	1,08	2,87	313,46	7,88	106,91	300,00	97,31	104,49	2,81

9.3 Reator contínuo (continuação)

Tempo	N-NH ₄ ⁺ (mgL ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mgL ⁻¹)	S-SO ₄ ⁻² (mgL ⁻¹)	pH	N-NO ₃ ⁻ entrada (mgL ⁻¹)	S-S ₂ O ₃ ⁻² entrada (mgL ⁻¹)	Conversão de N (%)	Conversão de S (%)	Razão S/N entrada
41	1,69	0,16	329,93	7,96	116,84	288,00	99,86	114,56	2,46
42	4,64	0,34	327,99	8,01	112,78	288,00	99,70	113,89	2,55
43	1,57	2,33	339,62	8,03	116,39	288,00	98,00	117,92	2,47
44	3,98	1,34	335,74	7,96	116,39	288,00	98,85	116,58	2,47
45	5,99	2,33	329,44	8,05	109,62	288,00	97,87	114,39	2,63
46	3,98	1,34	355,12	7,96	116,39	288,00	98,85	123,31	2,47
47	5,99	2,15	341,55	8,05	108,71	288,00	98,02	118,60	2,65
48	6,89	0,07	353,18	7,86	111,87	288,00	99,93	122,63	2,57
49	5,65	0,52	336,71	7,89	112,78	297,00	99,54	113,37	2,63
50	4,29	5,22	327,02	7,94	124,96	297,00	95,82	110,11	2,38
53	4,63	4,32	372,56	7,89	202,61	495,00	97,87	75,26	2,44
54	5,36	10,64	401,15	7,89	179,14	495,00	94,06	81,04	2,76
55	4,36	4,41	441,20	7,81	186,81	485,00	97,64	90,97	2,60
56	4,97	4,05	464,29	7,87	183,65	485,00	97,80	95,73	2,64
57	4,45	2,78	559,57	7,84	196,75	485,00	98,59	115,37	2,47
61	0,02	2,15	519,20	7,84	210,74	490,00	98,98	105,96	2,33
62	2,99	1,88	588,78	7,87	205,32	490,00	99,08	120,16	2,39
63	1,98	4,86	578,64	7,87	201,71	490,00	97,59	118,09	2,43
64	1,84	0,70	568,95	7,87	218,41	490,00	99,68	116,11	2,24
67	1,01	7,84	552,79	7,81	213,45	490,00	96,33	112,81	2,30
68	1,55	16,45	496,25	7,86	193,76	485,00	91,51	102,32	2,50
69	1,28	21,29	528,56	7,94	203,73	485,00	89,55	108,98	2,38
70	1,11	20,91	520,48	7,88	199,46	485,00	89,52	107,32	2,43
71	0,66	14,83	465,55	7,94	203,73	485,00	92,72	95,99	2,38
74	0,82	4,30	457,47	7,92	193,29	485,00	97,78	94,32	2,51
75	0,80	4,01	467,17	7,86	188,07	490,00	97,87	95,34	2,61

9.3 Reator contínuo (continuação)

Tempo	N-NH ₄ ⁺ (mgL ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mgL ⁻¹)	S-SO ₄ ⁻² (mgL ⁻¹)	pH	N-NO ₃ ⁻ entrada (mgL ⁻¹)	S-S ₂ O ₃ ⁻² entrada (mgL ⁻¹)	Conversão de N (%)	Conversão de S (%)	Razão S/N entrada
76	0,68	5,82	485,21	7,88	160,54	490,00	96,38	99,02	3,05
77	0,87	10,47	471,46	7,88	128,54	490,00	91,86	96,22	3,81
78	0,75	15,43	514,42	7,98	172,29	490,00	91,04	104,98	2,84
81	0,38	16,13	495,52	7,99	195,46	500,00	91,75	99,10	2,56
82	0,15	12,62	565,96	7,98	190,54	500,00	93,37	113,19	2,62
83	0,35	8,41	583,14	7,99	176,86	500,00	95,24	116,63	2,83
84	0,05	7,29	557,37	7,93	187,74	500,00	96,12	111,47	2,66
85	0,24	7,71	552,22	7,99	179,66	500,00	95,71	110,44	2,78
88	Nd	15,15	571,12	8,03	193,70	500,00	92,18	114,22	2,58
89	0,33	17,61	564,24	8,10	182,82	485,00	90,37	116,34	2,65
90	0,40	21,40	607,20	7,99	180,37	485,00	88,14	125,20	2,69
91	0,81	25,19	612,35	7,99	178,26	485,00	85,87	126,26	2,72
92	0,94	37,83	607,20	8,04	189,55	485,00	78,40	125,20	2,77
95	0,67	33,50	614,07	8,00	171,11	485,00	80,42	126,61	2,83
96	0,69	27,25	560,81	7,99	177,12	500,00	84,62	112,16	2,82
97	1,16	50,74	564,24	7,99	184,74	500,00	72,54	112,85	2,71
98	0,08	35,75	430,23	7,99	177,52	500,00	79,86	86,05	2,82
99	0,43	32,46	442,25	7,89	171,11	500,00	81,03	88,45	2,92
102	0,62	25,64	464,59	8,02	221,22	500,00	88,41	92,92	2,26
103	0,23	29,81	550,50	7,99	170,31	500,00	82,50	110,10	2,94
104	0,43	33,42	519,57	8,04	175,92	500,00	81,00	103,91	2,84
105	0,55	29,49	545,34	7,94	172,71	500,00	82,92	109,07	2,89
106	0,52	27,65	536,75	8,04	171,11	500,00	83,84	107,35	2,92
111	1,36	27,49	531,60	8,05	171,91	500,00	84,01	106,32	2,91
112	3,41	18,11	553,93	7,77	177,52	500,00	89,80	110,79	2,82
115	0,84	18,91	581,42	7,90	167,10	500,00	88,68	116,28	2,99

Nd= não identificado

9.3 Reator contínuo (continuação)

Tempo	N-NH ₄ ⁺ (mgL ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mgL ⁻¹)	S-SO ₄ ⁻² (mgL ⁻¹)	pH	N-NO ₃ ⁻ entrada (mgL ⁻¹)	S-S ₂ O ₃ ⁻² entrada (mgL ⁻¹)	Conversão de N (%)	Conversão de S (%)	Razão S/N entrada
116	0,84	10,49	579,71	8,11	170,31	500,00	93,84	115,94	2,94
117	0,89	11,13	577,99	8,07	172,71	500,00	93,55	115,60	2,89
118	0,51	17,14	552,22	8,12	181,13	500,00	90,53	110,44	2,76
119	0,58	29,57	541,91	8,20	184,34	500,00	83,96	108,38	2,71
122	1,68	20,27	536,75	8,05	199,57	500,00	89,84	107,35	2,51
124	0,88	23,40	529,88	8,29	193,16	485,00	87,89	109,25	2,51
125	0,89	25,64	535,03	8,34	173,11	485,00	85,19	110,32	2,80
126	0,46	32,62	552,22	8,29	156,68	485,00	79,18	113,86	3,10
130	0,55	24,28	581,42	8,07	187,14	485,00	87,03	119,88	2,59
131	0,47	38,63	565,96	7,84	178,33	485,00	78,34	116,69	2,72
132	0,60	29,33	593,45	7,76	187,95	485,00	84,39	122,36	2,58
133	0,97	18,19	586,58	7,84	172,71	485,00	89,47	120,94	2,81
136	0,71	20,83	595,17	8,29	167,10	485,00	87,53	122,72	2,90
138	1,28	27,18	572,83	8,14	177,52	485,00	84,69	118,11	2,73
141	1,02	42,65	440,54	8,29	257,57	485,00	83,44	90,83	1,88
143	0,70	52,60	504,11	8,07	177,07	485,00	70,29	103,94	2,74
145	0,98	53,05	583,14	8,06	175,26	485,00	69,73	120,24	2,77
150	1,10	57,85	583,14	8,06	236,76	485,00	75,57	120,24	2,05
152	0,23	54,95	564,24	8,01	144,90	485,00	62,08	116,34	3,35
154	0,17	51,42	591,73	7,87	162,33	485,00	68,32	122,01	2,99
157	0,25	34,42	565,96	7,87	153,30	500,00	77,55	113,19	3,26
159	0,07	34,50	588,30	7,87	205,92	500,00	83,24	117,66	2,43
161	0,53	38,01	583,14	7,68	205,92	500,00	81,54	116,63	2,43
164	0,16	44,61	593,45	7,89	170,85	500,00	73,89	118,69	2,93
166	0,31	37,59	571,12	7,90	149,97	500,00	74,93	114,22	3,33
168	0,28	32,00	584,86	8,00	140,79	500,00	77,27	116,97	3,55
171	0,08	23,82	552,22	8,01	175,52	500,00	86,43	110,44	2,85
173	0,00	31,91	565,96	7,85	212,90	490,00	85,01	115,50	2,30

9.3 Reator contínuo (continuação)

Tempo	N-NH ₄ ⁺ (mgL ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mgL ⁻¹)	S-SO ₄ ⁻² (mgL ⁻¹)	pH	N-NO ₃ ⁻ entrada (mgL ⁻¹)	S-S ₂ O ₃ ⁻² entrada (mgL ⁻¹)	Conversão de N (%)	Conversão de S (%)	Razão S/N entrada
175	0,00	18,39	555,65	7,70	169,52	490,00	89,15	113,40	2,89
178	0,00	12,46	593,45	7,83	188,44	490,00	93,39	121,11	2,60
180	0,00	18,05	519,57	7,96	180,14	490,00	89,98	106,03	2,72
187	0,24	13,38	565,96	7,79	183,83	490,00	92,72	115,50	2,67
189	0,15	13,96	545,34	7,96	202,29	490,00	93,10	111,29	2,42
192	Nd	7,62	516,13	7,87	183,83	490,00	95,86	105,33	2,67
194	0,49	3,78	550,50	7,87	173,21	490,00	97,82	112,35	2,83
196	0,19	7,20	583,14	7,95	144,17	490,00	95,01	119,01	3,40
199	0,78	1,19	588,30	7,97	153,98	485,00	99,23	121,30	3,15
201	0,16	4,94	533,32	8,01	157,25	485,00	96,86	109,96	3,08
203	0,12	3,61	526,44	7,99	161,34	485,00	97,76	108,55	3,01
208	0,19	9,87	547,06	8,04	191,60	485,00	94,85	112,80	2,53
211	Nd	2,94	557,37	7,99	208,36	485,00	98,59	114,92	2,33

Nd= Não identificado

9.4 Monitoramento da biomassa

9.4.1 100 mgS-S₂O₃⁻²/L

Tempo(h)	N-NH ₄ ⁺ (mgL ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mgL ⁻¹)	S-SO ₄ ⁻² (mgL ⁻¹)	pH
0	0,893	39,512	0,00	8,77
0,5	0,735	34,197	7,88	8,72
1	1,186	32,488	23,26	8,68
2	0,983	22,807	44,06	8,46
3	1,186	14,454	67,00	8,38
4	1,074	10,088	86,71	8,28
5	1,186	7,241	91,88	8,30
6	1,322	1,736	96,401	8,18
7	1,232	1,356	98,663	8,07

9.4.2 300 mgS-S₂O₃⁻²/L

Tempo(h)	N-NH ₄ ⁺ (mgL ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mgL ⁻¹)	S-SO ₄ ⁻² (mgL ⁻¹)	pH
0	0,034	117,218	0	8,90
1	Nd	99,386	37,627	8,69
2	0,192	97,982	51,765	8,66
3	0,023	89,417	76,334	8,46
4	0,091	84,923	119,975	8,33
5	0,215	64,424	133,303	8,27
6	0,125	60,434	165,604	8,18
7	0,079	53,975	204,091	8,08
8	0,226	47,867	244,639	7,98
9	0,249	39,443	297,902	7,81
10	0,362	33,897	303,056	7,76
11	0,475	28,414	305,118	7,68
12	0,610	25,402	308,555	7,69
13	0,565	21,470	306,493	7,67
14	0,848	10,659	309,929	7,67
15	0,452	1,883	305,118	7,61

Nd= não identificado

9.4.3 500 mgS-S₂O₃⁻²/L

Tempo(h)	N-NH ₄ ⁺ (mgL ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mgL ⁻¹)	S-SO ₄ ⁻² (mgL ⁻¹)	pH
0	1,661	200,725	0,000	8,83
1	0,644	189,141	65,977	8,70
2	0,825	157,549	99,702	8,62
3	1,209	151,932	154,437	8,48
4	1,571	139,997	193,022	8,39
5	1,209	135,434	238,381	8,18
6	1,797	118,936	289,925	8,21
7	2,135	109,471	317,759	8,13

8	1,006	102,755	369,304	8,08
10	1,458	71,584	396,107	7,81
12	1,232	76,780	461,936	7,67
14	1,910	63,581	432,728	7,67
16	1,435	55,801	472,245	7,52
18	1,006	38,109	494,581	7,48
20	0,870	30,948	503,172	7,46
22	1,051	26,455	504,890	7,43

9.5 Ensaios cinéticos com a biomassa

9.5.1 Variação da concentração celular

9.5.1.1 Concentração celular 1 gSSVL⁻¹ (relação S/N = 10/8)

Tempo(h)	N-NH ₄ ⁺ (mgL ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mgL ⁻¹)	S-SO ₄ ⁻² (mgL ⁻¹)	pH
0	0,000	176,888	0,000	8,95
2	0,057	168,766	22,586	8,98
4	0,012	156,952	47,843	8,79
6	0,034	148,092	68,510	8,67
8	0,079	141,447	103,904	8,42
10	0,057	133,325	140,770	8,23
12	0,079	117,081	195,064	8,13
14	0,012	95,668	243,172	7,92
16	0,057	76,471	277,731	7,84
18	0,079	60,901	318,083	7,77
20	0,034	31,366	342,334	7,59
22	0,079	17,121	398,689	7,52
24	0,034	9,922	446,797	7,57
26	0,057	2,353	474,288	7,55
28	0,079	-0,046	494,905	7,4

9.5.1.2 Concentração celular 2 gSSVL⁻¹ (relação S/N = 10/8)

Tempo(h)	N-NH ₄ ⁺ (mgL ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mgL ⁻¹)	S-SO ₄ ⁻² (mgL ⁻¹)	pH
0	0,531	175,497	0,000	8,93
1	0,350	161,417	37,400	8,76
2	0,328	155,657	77,120	8,61
3	0,576	131,417	93,614	8,43
4	0,418	116,057	145,846	8,23
5	0,509	106,457	188,456	8,21
7	0,689	77,588	240,197	7,91
8	0,893	62,388	321,294	7,9
10	0,870	27,474	365,278	7,78
12	1,164	16,354	442,006	7,59
14	1,435	4,914	498,705	7,46
16	1,458	1,254	503,859	7,39

9.5.1.3 Concentração celular 3 gSSVL⁻¹ (relação S/N = 10/8)

Tempo(h)	N-NH ₄ ⁺ (mgL ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mgL ⁻¹)	S-SO ₄ ⁻² (mgL ⁻¹)	pH
0	0,147	177,817	0,000	8,79
1	0,079	166,742	30,681	8,76
2	0,012	143,852	84,975	8,61
3	0,079	112,841	157,824	8,31
4	0,125	89,214	234,797	8,15
5	0,012	60,418	301,658	7,97
6	0,079	47,866	364,886	7,73
7	0,012	35,249	421,241	7,61
8	0,079	9,037	469,349	7,55
9	0,012	0,883	503,712	7,49
10	Nd	0,329	500,963	7,41

Nd= não identificado

9.5.2 Relação Molar S/N**9.5.2.1 Relação 10/6**

Tempo(h)	N-NH ₄ ⁺ (mgL ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mgL ⁻¹)	S-SO ₄ ⁻² (mgL ⁻¹)	pH
0	Nd	144,848	0,000	8,73
1	0,057	134,511	80,115	8,63
2	0,102	127,127	105,887	8,35
3	0,102	103,500	197,391	8,13
4	0,125	76,116	254,433	7,84
5	0,102	52,488	349,471	7,66
6	0,125	24,767	277,996	7,52
7	0,057	10,369	398,954	7,4
8	0,102	0,955	427,819	7,32
9	0,012	0,032	392,081	7,28
10	0,079	0,032	392,081	7,26
11	0,147	0,402	394,831	7,26

Nd= não identificado

9.5.2.2 Relação 10/8

Tempo(h)	N-NH ₄ ⁺ (mgL ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mgL ⁻¹)	S-SO ₄ ⁻² (mgL ⁻¹)	pH
0	Nd	182,529	0,000	8,58
1	Nd	138,593	30,338	8,48
2	Nd	118,265	71,917	8,25
3	0,102	102,198	142,017	8,02
4	0,170	86,460	183,105	7,82
5	0,057	73,559	257,329	7,61
6	0,328	58,313	313,685	7,54
7	0,012	47,820	370,727	7,48
8	0,125	20,877	403,716	7,46
9	Nd	15,959	447,013	7,41
10	Nd	10,221	495,121	7,36
11	Nd	8,746	500,620	7,3

Nd= não identificado

9.5.2.3 Relação 10/10

Tempo(h)	N-NH ₄ ⁺ (mgL ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mgL ⁻¹)	S-SO ₄ ⁻² (mgL ⁻¹)	pH
0	Nd	230,6115	0,0000	8,48
1	Nd	192,5774	31,9576	8,51
2	Nd	182,0852	55,0789	8,30
3	0,0115	170,2816	125,8667	7,92
4	0,0567	142,0839	153,5532	7,78
5	0,0341	119,7880	208,5340	7,56
6	0,1019	107,8705	273,1365	7,44
7	0,0793	81,9680	354,2331	7,4
8	0,1697	73,5501	383,0981	7,29
9	0,1019	64,3695	447,7986	7,29
10	0,1923	57,8119	504,4975	7,23
11	0,0567	57,4840	497,6249	7,24

Nd= não identificado

9.6 Diferentes concentrações de enxofre (S)**9.6.1 100 mgS-S₂O₃⁻²/L (Relação Molar 10/8)**

Tempo(h)	N-NH ₄ ⁺ (mgL ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mgL ⁻¹)	S-SO ₄ ⁻² (mgL ⁻¹)	pH
0	Nd	36,233	0,000	8,78
0,5	Nd	29,660	9,965	8,62
1	0,079	26,095	29,209	8,55
1,5	0,125	23,756	42,266	8,34
2	0,034	19,633	57,730	8,10
2,5	0,170	15,845	71,573	7,99
3	0,102	11,166	86,693	7,84
3,5	Nd	7,155	97,002	7,67
4	0,057	0,916	104,562	7,51

9.6.2 300 mgS-S₂O₃⁻²/L (Relação Molar 10/8)

Tempo(h)	N-NH ₄ ⁺ (mgL ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mgL ⁻¹)	S-SO ₄ ⁻² (mgL ⁻¹)	pH
0	Nd	105,005	0,000	8,58
1	0,057	81,313	15,905	8,50
2	Nd	73,930	58,515	8,37
3	0,102	60,270	95,627	8,14
4	0,057	36,273	117,128	7,92
5	0,102	24,796	139,121	7,88
6	0,125	3,199	200,974	7,76
7	0,057	5,414	268,326	7,63
8	0,102	3,938	295,816	7,59
9	Nd	4,307	291,692	7,6

Nd= não identificado

9.6.3 500 mgS-S₂O₃⁻²/L (Relação Molar 10/8)

Tempo(h)	N-NH ₄ ⁺ (mgL ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mgL ⁻¹)	S-SO ₄ ⁻² (mgL ⁻¹)	pH
0	Nd	182,529	0,000	8,58
1	Nd	138,593	30,338	8,48
2	Nd	118,265	71,917	8,25
3	0,102	102,198	142,017	8,02
4	0,170	86,460	183,105	7,82
5	0,057	73,559	257,329	7,61
6	0,328	58,313	313,685	7,54
7	0,012	47,820	370,727	7,48
8	0,125	20,877	403,716	7,46
9	Nd	15,959	447,013	7,41
10	Nd	10,221	495,121	7,36
11	Nd	8,746	500,620	7,3

Nd= não identificado

9.6.4 700 mgS-S₂O₃⁻²/L (Relação Molar 10/8)

Tempo(h)	N-NH ₄ ⁺ (mgL ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mgL ⁻¹)	S-SO ₄ ⁻² (mgL ⁻¹)	pH
0	Nd	243,453	0	8,53
1	Nd	228,374	23,023	8,66
2	0,057	195,594	68,726	8,46
3	Nd	172,648	95,971	8,36
4	0,102	143,802	189,438	8,06
5	Nd	131,345	191,500	8,00
7	0,125	117,250	302,345	7,77
8	0,147	72,997	346,330	7,63
9	0,079	81,079	347,704	7,66
10	0,170	75,671	438,422	7,55
11	0,125	50,922	479,756	7,54
13	Nd	32,893	555,355	7,4
14	0,057	19,233	581,127	7,37
15	0,125	12,841	624,081	7,35
16	0,283	5,629	682,498	7,31
17	0,079	1,040	706,552	7,29

Nd= não identificado

9.6.5 900 mgS-S₂O₃⁻²/L (Relação Molar 10/8)

Tempo(h)	N-NH ₄ ⁺ (mgL ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mgL ⁻¹)	S-SO ₄ ⁻² (mgL ⁻¹)	pH
0	Nd	310,335	0,000	8,78
1	0,012	290,667	20,372	8,71
2	0,102	270,717	56,110	8,46
3	0,034	237,937	54,931	8,48
4	0,125	210,893	103,040	8,11
5	0,057	196,142	153,897	8,00
7	0,192	176,474	238,184	7,78
9	0,057	143,694	336,119	7,63
12	0,102	115,831	480,443	7,45
14	0,125	78,242	581,814	7,43
16	0,057	69,606	652,749	7,30
18	0,057	40,760	707,730	7,31
20	Nd	14,536	793,637	7,30
21	0,079	3,334	848,618	7,27
22	0,125	0,220	893,290	7,25
23	0,034	0,548	903,599	7,24

Nd= não identificado

9.7 Cinética crescimento celular**9.7.1 Cinética de conversão substrato-célula (S=500 mgS-S₂O₃⁻²/L ; N=175mgN-NO₃⁻.L⁻¹;Relação S/N =10/8)**

Tempo(h)	N-NH ₄ ⁺ (mgL ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mgL ⁻¹)	S-SO ₄ ⁻² (mgL ⁻¹)	pH
0	0,011	195,922	0,000	8,70
1	0,125	191,005	17,869	8,78
2	0,192	172,976	50,170	8,49
3	0,034	153,964	77,071	8,18
4	0,125	132,657	132,739	7,92
5	0,057	111,022	204,902	7,9
6	0,170	78,242	264,202	7,63
7	0,102	64,034	315,059	7,57
8	0,147	47,808	348,048	7,63
9	0,057	40,704	426,395	7,49
10	0,192	38,901	473,129	7,45
11	0,125	26,116	501,994	7,4
12	0,034	23,166	510,241	7,36
13	0,011	22,019	504,743	7,31

9.7.2 Variação da concentração celular durante a cinética de crescimento celular

Tempo(h)	gSSVL-1
0	1,99
1	1,68
2	1,9
3	2,03
4	NQ
5	2,08
6	2,06
7	2,13
8	2,19
9	1,9
10	1,87
11	1,71
12	1,91
13	1,7

9.7.3 Variação da concentração celular durante a cinética de decaimento celular

Tempo(h)	gSSVL ⁻¹
0	1,81
1	1,9
2	2,25
3	2,06
4	1,97
5	2,24
6	2,15
7	2,16
8	2,21
9	2,27
10	2,17

10. Reator CSTR

10.1 Medidas de potencial redox na desnitrificação autotrófica via oxidação de tiosulfato

10.1.1 Cinética potencial redox 100 mg S-S₂O₃⁻²/L ; Relação S/N =10/8; X₀= 2gSSV.L⁻¹

Tempo (h)	Potencial(mV)	N-NO ₃ ⁻	S-SO ₄ ⁻²	pH
0	52	37,180	0,000	8,24
0,5	-94	36,196	3,314	8,14
1	-116	33,820	10,873	7,84
2	-105	23,658	34,240	7,71
2,5	-96	16,692	49,704	7,65
3	-90	11,529	65,167	7,59
3,5	-72	6,039	81,318	7,52
4	-30	1,531	97,125	7,48
4,5	1	0,794	96,437	7,45

Tempo (min)	Potencial(mV)	O ₂ (mg/L)
0	52	0,40
5	45	0,40
10	13	0,40
15	-42	0,20
20	-64	0,10
25	-82	0,20
30	-94	0,10
35	-104	0,10
40	-109	0,20
45	-111	0,20
50	-114	0,10
55	-115	0,10
0	-116	0,20
5	-116	0,20
10	-115	0,10
15	-115	0,10
20	-114	0,20
25	-114	0,10
30	-113	0,20
35	-111	0,20
40	-110	0,10
45	-109	0,10
50	-108	0,10
55	-106	0,10
0	-105	0,10
5	-104	0,10
10	-102	0,20
15	-102	0,10
20	-100	0,10
25	-98	0,10
30	-96	0,10
35	-95	0,10
40	-94	0,10
45	-93	0,10
50	-92	0,10
55	-91	0,10
0	-90	0,10
5	-89	0,10
10	-88	0,10
15	-88	0,20
20	-83	0,20
25	-76	0,30
30	-72	0,40
35	-63	0,40
40	-54	0,50
45	-50	0,50
50	-41	0,60
55	-36	0,70

Tempo (min)	Potencial(mV)	O ₂ (mg/L)
0	-30	0,80
5	-20	0,80
10	-19	0,80
15	-13	0,90
20	-9	1,00
25	-3	1,10
30	1	1,10

10.1..2 Cinética potencial redox 300 mg S-S₂O₃⁻²/L; Relação S/N =10/8; X₀= 2gSSV.L⁻¹

Tempo (h)	Potencial(mV)	N-NO ₃ ⁻	S-SO ₄ ⁻²	pH
0	139	107,088	0,000	8,29
1	-124	97,254	33,332	8,09
2	-114	88,076	61,510	7,87
3	-96	69,063	98,965	7,62
4	-85	52,397	127,928	7,48
5	-78	33,548	200,091	7,39
6	-72	20,052	223,654	7,32
7	-68	5,383	267,638	7,28
8	-55	3,744	303,376	7,3

Tempo (min)	Potencial(mV)	O ₂ (mg/L)
0	139	0,10
5	72	0,10
10	23	0,10
15	-10	0,10
20	-34	0,10
25	-66	0,10
30	-89	0,10
35	-96	0,10
40	-110	0,10
45	-116	0,10
50	-119	0,10
55	-122	0,10
0	-124	0,10
5	-125	0,10
10	-125	0,10
15	-125	0,10
20	-124	0,10
25	-124	0,10
30	-123	0,10
35	-122	0,10
40	-120	0,10
45	-119	0,10
50	-118	0,10
55	-116	0,10

Tempo (min)	Potencial(mV)	O ₂ (mg/L)
0	-114	0,10
5	-112	0,10
10	-111	0,10
15	-110	0,10
20	-108	0,10
25	-106	0,10
30	-104	0,10
35	-103	0,10
40	-101	0,10
45	-100	0,10
50	-99	0,10
55	-97	0,10
0	-96	0,10
5	-95	0,10
10	-94	0,10
15	-93	0,10
20	-92	0,10
25	-91	0,10
30	-90	0,10
35	-89	0,10
40	-88	0,10
45	-87	0,10
50	-86	0,10
55	-86	0,10
0	-85	0,10
5	-84	0,10
10	-83	0,10
15	-83	0,10
20	-82	0,10
25	-82	0,10
30	-81	0,10
35	-81	0,10
40	-80	0,10
45	-79	0,10
50	-79	0,10
55	-78	0,10
0	-78	0,10
5	-77	0,10
10	-77	0,10
15	-76	0,10
20	-76	0,10
25	-75	0,10
30	-75	0,10
35	-74	0,20
40	-74	0,20
45	-73	0,20
50	-73	0,20
55	-73	0,30

Tempo (min)	Potencial(mV)	O ₂ (mg/L)
0	-72	0,30
5	-72	0,40
10	-71	0,50
15	-71	0,50
20	-70	0,60
25	-70	0,70
30	-69	0,70
35	-69	0,70
40	-69	0,80
45	-69	0,80
50	-68	0,90
55	-68	0,90
0	-68	0,90
5	-66	0,90
10	-64	1,00
15	-62	1,00
20	-61	1,00
25	-60	1,00
30	-59	1,10
35	-58	1,10
40	-57	1,10
45	-57	1,10
50	-56	1,10
55	-55	1,10
0	-55	1,10
5	-54	1,10
10	-54	1,10
15	-54	1,10
20	-54	1,10
25	-54	1,10
30	-54	1,10

10.1.3 Cinética potencial redox 500 mg S-S₂O₃⁻²/L; Relação S/N =10/8; X₀= 2gSSV.L⁻¹

Tempo (h)	Potencial(mV)	N-NO ₃ ⁻	S-SO ₄ ⁻²	pH
0	102	174,943	0,000	8,51
1	-134	149,047	57,043	8,19
2	-108	141,179	83,944	7,82
3	-94	126,101	132,052	7,57
5	-81	84,142	210,596	7,40
6	-76	64,689	283,445	7,37
8	-69	34,204	364,542	7,33
9	-68	21,036	386,534	7,32
11	-64	8,907	445,639	7,3
12	-59	4,646	497,870	7,29

Tempo (min)	Potencial(mV)	O ₂ (mg/L)
0	102	0,30
5	-26	0,10
10	-111	0,00
15	-132	0,00
20	-139	0,00
25	-142	0,00
30	-142	0,10
35	-142	0,10
40	-141	0,10
45	-139	0,10
50	-138	0,10
55	-136	0,10
0	-134	0,10
5	-132	0,10
10	-130	0,10
15	-128	0,10
20	-125	0,10
25	-123	0,10
30	-121	0,10
35	-118	0,10
40	-116	0,10
45	-114	0,10
50	-112	0,10
55	-110	0,10
0	-108	0,10
5	-106	0,10
10	-105	0,10
15	-103	0,10
20	-102	0,10
25	-100	0,10
30	-99	0,20
35	-98	0,20
40	-97	0,20
45	-96	0,20
50	-95	0,20
55	-94	0,20
0	-94	0,30
5	-93	0,30
10	-92	0,30
15	-91	0,40
20	-91	0,40
25	-90	0,40
30	-90	0,40
35	-89	0,40
40	-88	0,40
45	-87	0,40
50	-87	0,40
55	-87	0,50

Tempo (min)	Potencial(mV)	O ₂ (mg/L)
0	-86	0,50
5	-86	0,50
10	-85	0,60
15	-85	0,60
20	-84	0,60
25	-84	0,70
30	-83	0,70
35	-83	0,70
40	-82	0,70
45	-82	0,80
50	-82	0,80
55	-81	0,80
0	-81	0,90
5	-81	0,90
10	-80	0,90
15	-80	1,00
20	-79	1,00
25	-79	1,00
30	-79	1,00
35	-78	1,00
40	-78	1,00
45	-77	1,10
50	-77	1,10
55	-77	1,10
0	-76	1,10
5	-76	1,10
10	-76	1,10
15	-76	1,10
20	-75	1,00
25	-75	1,00
30	-74	1,00
35	-74	1,00
40	-74	0,90
45	-73	0,90
50	-73	0,90
55	-73	0,90
0	-73	0,90
5	-72	0,80
10	-72	0,80
15	-72	0,80
20	-71	0,70
25	-71	0,70
30	-71	0,70
35	-71	0,70
40	-70	0,70
45	-70	0,70
50	-70	0,60
55	-69	0,60

Tempo (min)	Potencial(mV)	O ₂ (mg/L)
0	-69	0,60
5	-69	0,60
10	-69	0,60
15	-68	0,50
20	-68	0,50
25	-68	0,50
30	-68	0,50
35	-68	0,50
40	-68	0,50
45	-68	0,40
50	-68	0,40
55	-68	0,40
0	-68	0,40
5	-68	0,40
10	-68	0,40
15	-68	0,40
20	-68	0,40
25	-68	0,40
30	-68	0,40
35	-68	0,40
40	-68	0,40
45	-68	0,30
50	-68	0,30
55	-68	0,30
0	-68	0,30
5	-68	0,30
10	-68	0,30
15	-68	0,30
20	-68	0,30
25	-68	0,30
30	-68	0,30
35	-68	0,30
40	-67	0,30
45	-65	0,30
50	-65	0,30
55	-64	0,30
0	-64	0,30
5	-63	0,30
10	-62	0,30
15	-62	0,30
20	-62	0,30
25	-61	0,30
30	-61	0,30
35	-60	0,30
40	-60	0,30
45	-60	0,30
50	-60	0,30
55	-59	0,30

Tempo (min)	Potencial(mV)	O ₂ (mg/L)
0	-59	0,30
5	-59	0,30
10	-59	0,20
15	-58	0,20
20	-58	0,20
25	-58	0,20
30	-58	0,20